

10 Medisinplanter fra Burma

En litteraturstudie



Av

Hoai van Nguyen

Farmasøytisk Institutt

Det Matematisk-Naturvitenskapelige Fakultet

Universitetet i Oslo

Mai 2009

10 Medisinplanter fra Burma

En litteraturstudie

Masteroppgave i Farmakognosi

Av

Hoai van Nguyen

Farmasøytisk Institutt

Universitetet i Oslo

Veileder

Professor Berit Smestad Paulsen

Avdeling for Farmakognosi

Farmasøytisk Institutt

Universitetet i Oslo

Mai 2009

Forord

Jeg vil først og fremst takke professor Berit Smestad Paulsen for hennes tilgjengelighet for alle mine spørsmål. Alle rådene om litteratursøket som hun har gitt meg, samt korrekturlesing og korrigering av skrivefeil i oppgaven min.

Jeg vil også takke professor Karl Malterud for hans tilgjengelighet og velvillig hjelp for mine sporadiske besøk på kontoret hans.

Deretter vil jeg takke bibliotekaren på Farmasøytisk Institutt, Bente Rasch, for hennes kjempeinnsats ved bestilling av et stort antall vitenskapelige artikler til oppgaven min.

Til slutt vil jeg rette en takk til familien min og kjæresten min som har stått bak meg og støttet meg gjennom alle stadier av studiet.

Hjertelig takk alle sammen.

Hoai van Nguyen,

Oslo, mai 2009

INNHold

Forord	I
Innhold	II
Sammendrag	1
 Introduksjon	
Plantene.....	2
Hensikten med denne masteroppgaven.....	2
Litteratur.....	2
Burma-samlingen.....	3
Hvorfor er kunnskapen om medisinplanter viktig?.....	3
Fakta om Burma.....	3
Oppbygging av oppgaven.....	4
Tegn, forkortelser og forklaring.....	5
Kjemiske strukturer.....	6
Referanser.....	6
 Planter	
<i>Bischofia javanica</i> Blume.....	7
<i>Buddleia asiatica</i> Lour.....	29
<i>Colebrookea oppositifolia</i> Smith.....	56
<i>Eclipta alba</i> Hassk.....	66
<i>Grewia microcos</i> L.....	105
<i>Jasminum humile</i> L.....	111
<i>Plumbago indica</i> L.....	118
<i>Pterospermum acerifolium</i> Willd.....	138
<i>Sapindus mukorossi</i> Gaertn.....	155
<i>Senecio densiflorus</i> Wall.....	204
 Oppsummering/konklusjon	 209

Sammendrag

Hensikten med denne masteroppgaven er å undersøke om tradisjonell bruk av utvalgte medisinerplanter fra Burma har vitenskapelig støtte. I tillegg ble interessante studier på biologiske/farmakologiske effekter av plantene tatt med.

Litteratursøket ble utført ved hjelp av databasene Medline/Ovid, Medline/Pubmed, Embase/Ovid, Chemical Abstracts/Scifinder, ISI Web of Knowledge, Biological Abstracts, Sciencedirect og Cochrane. Andre nettsider som ble brukt til å finne eventuelle synonymer er The International Plant Names Index (IPNI), W³TROPICOS og Integrated Taxonomic Information System (ITIS).

Etter et grundig søk etter vitenskapelige studier ved hjelp av forskjellige databaser, er det på grunnlag av tilgjengelig litteratur kommet fram til at dokumentering av tradisjonell bruk er varierende hos de forskjellige plantene.

Hos tre av plantene (*Grewia microcos* L., *Jasminum humile* L., *Senecio densiflorus* Wall.) ble det ikke funnet dokumentasjon som kan bekrefte tradisjonell bruken.

Hos tre av plantene (*Eclipta alba* Hassk., *Plumbago indica* L., *Sapindus mukorossi* Gaertn.) ble det funnet en god del vitenskapelige studier, hvor de kan gi en bekreftelse til en del av indikasjonene som plantene har i tradisjonell medisinen.

Hos resten av plantene (*Bischofia javanica* Blume, *Buddleia asiatica* Lour., *Colebrookea oppositifolia* Smith, *Pterospermum acerifolium* Willd.) ble det funnet en grei mengde med studier. Hvor en del av dem gav tradisjonell bruk av plantene en vitenskapelig bekreftelse.

I løpet av denne masteroppgaven har mange indikasjoner av plantene fått en vitenskapelig bekreftelse, men det er fremdeles mange interessante indikasjoner som fremdeles ikke har blitt belyst. Interessante bruksområder er hvor plantene ble brukt mot epilepsi og brukt i behandling av kreft. Dermed bør det gjennomføre flere vitenskapelige studier slik at vi eventuelt en gang i fremtiden kan få nyttegjøre oss av egenskapene til disse medisinerplantene.

Introduksjon

I denne masteroppgaven vil det legges vekt på vitenskapelige studier som er utført på 10 utvalgte medisinplanter fra Burma. Disse plantene er hentet fra Burma-samlingen utarbeidet av Arnold Nordal i perioden 1957-1961.

Plantene:

- *Bischofia javanica* Blume
- *Buddleia asiatica* Lour.
- *Colebrookea oppositifolia* Smith.
- *Eclipta alba* Hassk.
- *Grewia microcos* L.
- *Jasminum humile* L.
- *Plumbago indica* L.
- *Pterospermum acerifolium* Willd.
- *Sapindus mukorossi* Gaertn.
- *Senecio densiflorus* Wall.

Hensikten med denne masteroppgaven

- Finne tradisjonell bruk av plantene i Burma og andre land.
- Finne vitenskapelige støtter til tradisjonell bruken av plantene.
- Finne interessante studier om biologiske og farmakologiske aktiviteter av plantene.
- Finne kjemiske strukturer til innholdsstoffene med dokumentert aktivitet.
- Diskutere og konkludere om tradisjonell bruk av plantene har vitenskapelige støtte på grunnlag av tilgjengelige informasjon.

Litteratur

For å få tilgang til vitenskapelige studier ble det brukt forskjellige databaser. Databasene som ble brukt i oppgaven er Medline/Ovid, Medline/Pubmed, Embase/Ovid, Chemical Abstracts/Scifinder, ISI Web of Knowledge, Biological Abstracts, Sciencedirect og Cochrane. Andre nettsider som ble brukt til å finne eventuelle synonymer er The International Plant Names Index (IPNI), W³TROPICOS og Integrated Taxonomic Information System (ITIS). Studiene som ble funnet og brukt er på engelsk. Det ble også funnet studier på andre språk, men de ble ikke tatt med på grunn av språkproblemer. Det ble funnet mange interessante studier, men på grunn av at det ikke var mulig å få tak i er en del av dem ikke tatt med.

Burma-samlingen [1]

Burma Pharmaceutical Industry (B.P.I.) er en farmasøytisk fabrikk i Burma som ble bygd for å dekke behovet for nødvendige medisiner til befolkningen av Burma. I 1957 fikk Nordal i oppdrag som FNs rådgiver å assistere B.P.I. i deres prosjekt som gikk utover å samle inn råmaterier fra naturlige kilder i Burma. Nordals oppgave i Burma bestod av to deler, kultivering av viktige medisinske planter som kan være viktige for B.P.I. og kartlegging og nyttegjøring av den medisinske floraen i Burma. Kilder til innsamlet informasjon kommer fra representanter for det innfødte medisinsystemet som bestod av buddhistmunker, lokale medisinmenn, vandrende medisinmenn, handelsmenn i lokale drogemarkeder, vandrende drogehandelsmenn og profesjonelle drogesamlere.

Hvorfor er kunnskapen om medisinplanter viktig?

I dagens samfunn hvor mer og mer av naturen blir borte på grunn av diverse grunner, er det spesielt viktig å verne kunnskapene om medisinplanter som kan ha en viktig betydning i behandling av diverse sykdommer. Planteriket er basisen for livet på jorda og er sentral i menneskets levebrød. [2] Tradisjonell kunnskap om medisinplanter har alltid veiledet søket etter nye legemidler. Selv med avanserte søker metoder, har tradisjonell kunnskap bidratt med ledetråder til oppdagelse av verdifulle legemidler. [3]

I følge WHO er det opptil 80 % av befolkningen i noen afrikanske og asiatiske land som bruker tradisjonell medisin for å ta vare på helsen sin. [4] Det kommer av at befolkningen i de landene ikke har økonomisk mulighet til å ha nytte av medisinen fra vesten. Derfor er kunnskapen om medisinplanter gull verdt for lokale innbyggerne. Dessuten er preparater av tradisjonell medisinplanter ofte enkle preparater som ofte er billigere å produsere enn syntetiske preparater. I tillegg så er råstoffene mer tilgjengelige i form av at det finnes naturlig, noe som gjør at det er billigere å få tak i.

Fakta om Burma [5]

Navnet Burma ble brukt fram til 1989, da endret militærjuntaen SLORC (Det statlige råd for gjenopprettelse av lov og orden) navnet til Myanmar.

Landet er grenset til Thailand i øst og sørøst, mot Laos over Mekongelven i øst, mot Kina (Yunnan og Tibet) i nordøst, mot India i nordvest og en kort grense mot Bangladesh i vest. Landets hovedstad er Yangon (Rangoon), offisielt språk er burmansk (tilhører den sino-tibetanske språkfamilien) og religionene i landet er buddhisme, kristendommen og islam. Befolkningentallet er på 50,5 millioner i 2005. Befolkningen er meget blandet, men 2/3 er burmanere.

Klima

Burma (Myanmar) har et tropisk monsunklima med tre markerte årstider. Fra november til februar er det den kjølige og tørre perioden, fra mars til mai er den hete og tørre perioden og fra mai til oktober er det regntiden. Nedbørsmengdene varierer veldig i de forskjellige deler av landet. Kystene ved Rakhine og Taninthayi mottar i gjennomsnitt omtrent 5000 mm i året. Fjellene i nord får som regel over 2000 mm, og lavlandsområdene og Shanplatået ligger årsnedbøren på omtrent 1000-2000 mm. Mandalay-sletta som betraktes som ”den tørre sone” mottar kun 500-800 mm med nedbør i året.

Temperaturen er høye hele året, bortsett fra i fjellene. I juli har praktisk talt hele landet middeltemperaturer over 27 grader. De varmeste månedene i monsunen (april-mai) ligger temperaturen mange steder over 30 grader.

Planteliv

Store deler av landet, opp til halvparten av landarealet er dekket av skog. Over 1000 meter finner man eviggrønn skog av eik og furu. I fjellstrøkene i nord vokser rododendron opp til 2000 metergrensen. I områder med nedbør mengden 2000 mm eller mer i året, finner man eviggrønne tropiske trær. I områder med nedbør mellom 1000-2000 mm finner man monsunkoger med trær som feller bladene i den varme årstiden. I områder med nedbørsmengden mindre enn 1000 mm består vegetasjonen delvis av krattskog. Opprinnelig gress- og steppeland finnes ikke, men der skog er ryddet, gror det opp bambus, bregner og stivt gress. Mangroveskog vokser tett i Ayeyarwady- og Sittungdeltaets tidevannsbelte.

Oppbygging av oppgaven

Oppgaven er bygd opp etter malen nedenunder:

- Navn på planten (latinsk)
- Familie
- Botanisk navn
- Burmesisk navn
- Navn på andre språk
- Tradisjonell bruk i Burma
- Tradisjonell bruk i andre land
- Fakta om planten
- Kjemiske studier
- Biologiske studier
- Konklusjon og diskusjon
- Kjemiske strukturer
- Litteraturliste

Tegn, forkortelser og forklaring

Nedenfor er det en liste over forkortelser som er brukt i oppgaven.

α = alfa

β = beta

γ = gamma

Δ = delta

μg = mikrogram

mg = milligram

g = gram

kg = kilogram

i.p. = intraperitoneal

i.v. = intravenøs

i.m. = intramuskulær

p.o. = peroral

ml = milliliter

μl = mikroliter

l = liter

ED_{50} = effektiv dose, dose som gir virkning i 50 % av en populasjon

IC_{50} = inhibitory concentration, konsentrasjon som gir en form for inhibering i 50 % i en populasjon

LC_{50} = letal concentration, konsentrasjon som forårsaker død i 50 % av en populasjon

LD_{50} = letal dose, dose som forårsaker død i 50 % av en populasjon

μm = mikrometer

cm = centimeter

m = meter

ppm = parts per million

MED = minimum effekt dose

μM = mikromolar

mM = millimolar

M = molar

nm = nanometer

etc. =et cetera

in vivo = I den levende organisme. Brukes ofte i forbindelse med medisinske studier utført på levende dyr eller mennesker. Slike studier er betydelig mer kompliserte enn *In vitro* studier, men gir best vitenskapelig belegg for virkningen av de testede stoffene.

in vitro = I reagensglass. Refererer ofte til medisinske laboratorieundersøkelser der det ikke er brukt levende organismer, men der studien foregår på celler i omgivelser utenfor kroppen

w/v = vekt per volum

v/v = volum per volum

Kjemiske strukturer

Kjemiske strukturer av tilgjengelige innholdsstoffer som har dokumentert effekt i hver plante er tatt med i slutten av hver plante. Strukturene er hentet fra SciFinder Scholar. I teksten henviser tallene i parentes bak navnet til strukturene i slutten av teksten.

Referanser

Referansehenvisninger i oppgaven er skrevet i form av tall i hakeparentes. Disse tallene viser til kildene som ligger i slutten av hver plante. Referanser til bildene er gjengitt helt på slutten av hver plante. Mange av primærkildene som er nevnt i oppgaven var dessverre ikke mulig å få tak i. Derfor er de bare blitt nevnt, mens kildehenvisningen refererer til artikkelen som er tilgjengelig.

Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Sajem, A. L. and Gosai, K.: *Traditional use of medicinal plants by the Jaintia tribes in North Cachar Hills district of Assam, northeast India*. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 2006. **2**(1), 33.
3. Surveswaran, S., Cai, Y.-Z., Corke, H., and Sun, M.: *Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants*. Food Chemistry, 2007. **102**(3), 938-953.
4. Ukjent: *World Health Organization*. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>, 05.05.09.
5. Aschehoug and Gyldensdals.: *Store norske leksikon*. bind 10, 2.opplag, Kunnskapsforlaget, Oslo 2006, s. 647-655.

***Bischofia javanica* Blume**



***Bischofia javanica* Blume**

Familie: Euphorbiaceae. [1]

Botanisk navn: *Bischofia javanica* Blume. [1]

Burmesisk navn: Aukkywe, Aukkyu. [1]

Engelsk navn: Javan Bishopwood, Java cedar. [2, 3]

Tradisjonell kinesisk navn: Qiu Feng Mu. [2]

Filippinsk: tuai.

Fransk: bois de l'évêque.

Hindi: bhillar, kaen, kot semla, paniala, pankain.

Japansk: akagi.

Javanesisk: gintungan.

Lao (Sino-Tibetan): foug fat, khom fat.

Thailandsk: pradu-som, toem.

Vietnamesisk: nhoi. [3]

Fiji: togo, koko, koka, koka damu, toga toga.

Solomon Islands: oli oli.

Tonga, Futuna, Niuean, Cook Islands: koka.

Samoa: 'o'a. [4]

Nepali: kainja. [5]

Aktiv del av planten: Blader, juice. [1]



Tradisjonell bruk i Burma

Planten ble brukt som et antiseptisk middel. [1]

Tradisjonell bruk i Kina

Deler av planten som har blitt brukt er bark av roten, gren og blader.

Effekter

Bark av roten og gren: utdriver tarmgass, økt sirkulasjon (quicken the blood), og eliminerer hevelser.

Bladene: flytte qi (energi flyten, livs kraften) og økt blodsirkulasjon, eliminerer hevelser og fjerner toksin.

Indikasjon

Bark av roten: skjelettsmerter.

Bladene: senking av qi og blod, abscess (byll) og ømme punkter

Roten: rød og hvit dysenteri (en tarmsykdom som ytrer seg til blodig diaré og smerter).[2]

Tradisjonell bruk i Vietnam

Bladene ble brukt mot leukorrhoea (hvit utflod), vulvovaginitis (inflammasjon av vagina),

Trichomonas vaginalis (protozo i klassen flagellater; forårsaker trichomonasinfeksjon), byller og brennkopper. Planteekstraktet ble også brukt som en salve og et uttrekk til ytre applikasjon.

Utrekk av tørket blader behandlet også diaré, i en dose på 20 -40 g per dag. Utrekket ble også brukt mot gingivitt (betennelse i tannkjøttet), tannverk, hoste og sår hals. [6]

Tradisjonell bruk i Fiji

Væsken fra stilken av planten ble gitt til barn som ikke har begynt å gå ved en alder av to.

Barken har blitt brukt til å behandle magesår, munnsår og soppinfeksjon på foten (athlete's foot/ Tinea Pedis).

Tradisjonell bruk i New Guinea

Bladene ble brukt til å behandle magesmerter.

Tradisjonell bruk i Tonga

Infusjon av barken ble brukt til å behandle unge barn med munninfeksjoner. Juicen fra barken ble også applisert på brannskader.

Tradisjonell bruk i Futuna

Infusjon av barken ble brukt til å behandle unge barn med munninfeksjoner.

Tradisjonell bruk i Samoa

Infusjon av barken ble også brukt til å behandle unge barn med munninfeksjoner. Væsken av bladene ble også brukt til å behandle pterygium og andre øyeinfeksjoner.

Tradisjonell bruk på Salomon Islands

Kambium (delingsvev/lateral meristem) av planten ble brukt i behandling av tuberkulose. [4]

Tradisjonell bruk i Øst Sikkim

Gren, kvist ble brukt til å behandle tannmark. [7]

Tradisjonell bruk blant stammene av Chhattisgarh og Sikkim

Saft fra bladene ble brukt til å behandle kreftsår. [5]

Fakta om treet

Bischofia javanica Blume er et stort tre som har en høyde opptil 15-20 meter, og barken er nesten glatt. Blomstreperioden er mellom februar og juni. *Bischofia javanica* Blume vokser vilt på fjellene. Kultivert som et skyggetre. [6]

Treet liker seg godt i områder med en tydelig tørke sesong. Det er også vanlig å finne det i primære eller sekundær tørke eller periodevis tørke skogsområder. Treet finnes også i monsun skoger, i "alltid grønn" skoger, myr og av en sjelden gang på savanne områder (gresslette). Australia, Kina, India, Japan, Malaysia, Papa New Guinea, Samoa, Thailand, Tonga, Kenya, Sør Afrika, Tanzania, Uganda og USA er eksempler på land hvor treet finnes. Innen medisin så har *Bischofia javanica* Blume vist til å ha egenskaper til å behandle sår, til å drepe intestinale mark (anthelmintic) og behandle dysenteri. [3]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

1.1 Chemical investigation of *Bischofia javanica* Blume [8]

Fremgangsmåte

Plantematerial

2,5 kg av tørket blad ble behandlet med petroleter. Ekstraktet som kommer fra blandningen ble senere behandlet med varmt CH₃OH for å fjerne det voksaktige materialet fra kjølingen. Ekstraktet ble etter hvert tatt gjennom kromatografi over silika gel ved bruk av en blanding som består av petroleter, C₆H₆, CHCl₃ og CH₃OH. Resultat var at forbindelsene 1-5 ble fremstilt. Den løselige delen av C₂H₅OH ekstraktet i CH₃COOC₂H₅ ble fraksjonert med C₂H₅OC₂H₅ for å fremstille forbindelsene 6-8, og CH₃OH for å fremstille forbindelsene 9-10.

Resultat

	Forbindelse	Metode	Annet
1	n-triacontane	TLC, smeltepunkt, IR, NMR, MS	
2	β -amyrin	TLC, smeltepunkt, IR, NMR, MS	triterpenoid
3	friedelin-3-one	TLC, IR, NMR, MS	triterpenoid
4	β -sitosterol	TLC, IR, NMR, MS	Triterpenoid
5	ursolic acid	IR, NMR, MS	triterpenoid
6	chrysoeriol	TLC, PC, UV, NMR	flavonoid
7	fisetin	TLC, PC, UV, NMR, MS	flavonoid
8	quercetin	PC, UV, NMR, MS	flavonoid
9	luteolin-5-O-glycoside	PC, UV, NMR	flavonoid og sukker
10	quercetin-3-O-rhamnoside det vil si quercitrin	PC, UV, NMR	flavonoid og sukker

1.2 Extractives from the Wood and Leaves of *Bischofia javanica* Blume [9]**Fremgangsmåte****Plantematerial**

Tørket vedmel fra *Bischofia javanica* Blume (omtrent 5 kg) som var hentet fra Ogasawara Island ble grundig ekstrahert med varm n-heksan i åtte timer. Et rødaktig fast stoff på rundt 24 g ble fremstilt ved konsentreringen.

Tørket blader på omtrent 1 kg som var samlet inn fra Ogasawara Island ble grundig ekstrahert med metanol i åtte timer. Resultatet ble et mørkegrønn og klissete fast stoff på omtrent 114 g. Metoder for å identifisere forbindelsene er blant annet kolonne kromatografi, TLC, NMR, IR og HPLC.

Resultat

Fra veden til *Bischofia javanica* Blume ble det identifisert tre steroider, stigmasterol, β -sitosterol og β -sitostenone.

Fra bladene ble det identifisert blant annet to triterperenoid, friedelin og friedelin-3 α -yl acetat. Andre forbindelser som ble funnet er n-hentriacontane og β -sitosterol. Dette er også første gangen n-hentriacontane ble funnet i bladene til *Bischofia javanica* Blume.

1.3 Bischofianin, a dimeric dehydroellagitannin from *Bischofia javanica* [10]

Et nytt tannin, bischofianin, har blitt isolert fra bladene av *Bischofia javanica* Blume.

Fremgangsmåte

Plantematerial

Bladene ble hentet fra Taiwan Forestry Research Institute, Heng-chun Branch, Taiwan, R.O.C.

Ekstraksjon

Tørket blader på omtrent 2,8 kg ble ekstrahert med Me₂CO-H₂O i forhold 4 til 1 under romtemperatur. Ekstraktet ble separert gjennom en kombinasjon av kromatografi på Sephadex LH-20 (EtOH), cellulose og forskjellige omvendt-fase geler, som MCI-gel CHP 20 P (H₂O-MeOH) og Bondapak C₁₈/Porasil B, for å gi bischofianin.

Resultat

En ny toleddet ellagitannin, bischofianin (1), som består av galloylglukose og dehydroellagitannin andeler, har blitt isolert fra *Bischofia javanica*. Fra bladene ble det også isolert fem andre kjente tanniner, geraniin (2) [11], corilagin (3) [12], furosin (4), punicalagin (5) og procyanidin B-1 (6). Alle ble identifisert ved hjelp av sammenligning av deres fysikalske og spektrale data med det som er skrevet i litteraturen eller gjennom direkte sammenligning med kjente standarder.

2) Biologiske studier

2.1 Extractives from the Wood and Leaves of *Bischofia javanica* Blume [9]

Ekstraktet til *Bischofia javanica* Blume ble testet for treets spiringsevne og vekst regulerende egenskaper.

Fremgangsmåte

Plantematerial

Bladene til *Bischofia javanica* Blume (Akagi) ble samlet inn fra Ogasawara Island i 1986. Effekten ble testet på hagereddik (*Raphanus sativus* L. var. *Radicula* Pers.) og komatsuna (*Brassica rapa* L. var. *perviridis* Bail.).

Det ble tilberedt en vandig oppløsning av metanolekstrakt med konsentrasjon 0,1-0,001 %. Samtidig ble det også brukt forbindelsene i *Bischofia javanica* Blume til å teste på disse to plantene. Vandig oppløsninger av forbindelsene hadde en konsentrasjon på 0,1-0,01 %.

Resultat

Med en konsentrasjon på 0,1 % viste det tegn på spiring inhiberende effekt hos hagereddik. Fortynnete oppløsninger gav samme effekt som blant kontrollene.

Hos komatsuna ble det registrert en hemmende effekt på vekst av kimstengelen og en stimulerende effekt på vekst av kimroten av planten.

Blant de vandige oppløsningene av forbindelsene funnet i *Bischofia javanica* Blume, gav friedelin (7) en inhiberende effekt hos kimroten og kimstengelen hos hagereddik, mens hos komatsuna var effekten det samme som i kontrollene. Ellers gav de andre forbindelsene samme effekt som kontrollene.

Vannekstrakter av bladene til *Bischofia javanica* Blume er under forskning for samme effekt. Resultater er ikke klare ennå.

2.2 Antinematodal Activity of some Tropical Rainforest Plants against the Pinewood Nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* [13]

Seksti fem metanol planteekstrakter fra Sumatra regnskogen ble testet *in vivo* for effekt mot rundormen *Bursaphelenchus xylophilus* (antinematodal effekt). *Bischofia javanica* Blume var blant de 27 planteartene som viste sterk effekt ved minimum effektiv dose (MED) på 0,7 mg/bomull "ball" (mg/bl.). Ved en høyere konsentrasjon var *Bischofia javanica* Blume også blant plantene som viste sterk aktivitet (MED, 5mg/bl.).

Fremgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet var samlet inn august 1997 fra "Panti" skogsområdet, 120 km nord for Padang, som er hovedstad av West Sumatra, Indonesia. De fleste av plantene ble samlet inn på bakgrunn av informasjon på etnofarmakologisk og tradisjonell bruk.

Forberedelse av planteekstraktene

Ferske deler av plantene (50 g hver) ble bløtlagt i metanol (150 ml) ved romtemperatur for en uke. Etter filtreringen, ble oppløsningen fordampet "in vacuo" for å gi metanolekstrakter. Ekstraktene ble videre oppløst i metanol for å oppnå en konsentrasjon på 200mg/ml.

Forberedelse av test nematodene

Rundormene fra furutrær (*Bursaphelenchus xylophilus*) ble samlet inn fra furutrær i Okayama University Experimental Forest. Soppen *B. cinerea*, ble dyrket på en agar medium som bestod av 14 ml av Czapeck-Dox. Innholdet ble oppbevart i en petriskål med en diameter på 9 cm, ved 21 grader i ti dager. Petriskålene med full vokst sopp ble inokulert med *B. xylophilus* og ble oppbevart ved 26 grader inntil all "mycelia" har blitt brukt opp (5 dager).

De levende rundormene ble vasket og separert fra hverandre. Antallet av rundormene ble telt under et mikroskop. Senere ble det laget en vandig suspensjon av rundormene (omtrent 15,000 hoder/ml).

Midt i petriskålene med soppen *B. cinerea*, ble det plassert en bomull ball (5 mm i diameter) som inneholder ekstraktene fra plantene. Suspensjonen med rundormene (0,1 ml) ble injisert i bomull ballen og petriskålene ble oppbevart ved 26 grader i 96 timer.

Effekten ble registrert etter som om rundormene ernærte seg på ”mycelia”, og resultat fikk + eller – ettersom om det var effekt eller ikke. Etter forfatterens erfaringer startet studien med 20 mg/bomull ball (mg/bl.), og ble etter hvert fortynnet helt til man fikk MED (minimum effekt dose). MED-verdi er definert som den laveste dose av testekstraktet som inhiberer rundormene fullstendig fra å ernære seg på ernæringsmaterialer. Hvert ekstrakt ble testet tre ganger totalt.

Resultat

Blant 65 metanolekstrakter, var det 27 plantearter som hadde positive effekter. Ekstraktet fra *Bischofia javanica* Blume var en av de som viste høy aktivitet ved MED-verdi på 0,7 mg/bl. Her var det saften til *Bischofia javanica* Blume som ble brukt. Videre viste det seg at bladene til *Bischofia javanica* også hadde effekt. Det ble registrert sterkt aktivitet ved MED-verdi 5 mg/bl.

Planteart	Deler av planten	Dose (mg/bl)						MED, mg/bl.
		20	10	5	2,5	1,3	0,7	
<i>Bischofia javanica</i> Blume	Saft	+	+	+	+	+	+	0,7
<i>Bischofia javanica</i> Blume	Blader	+	+	+	-	-	-	5

Gjennom flere studier har resultatene indikert at plantearter fra familien Euphorbiaceae inneholder generelt komponenter som har en antinematodal effekt.

2.3 Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of Methanolic Extract of Leaves of *Bischofia javanica* Blume on Experimental Animals [5]

Ekstrakt av bladene til *Bischofia javanica* Blume ble testet for antiinflammatorisk og antinociceptive effekter.

2)

Fremgangsmåte

Plantematerial

Bladene til *Bischofia javanica* Blume ble samlet inn fra Melli området av Sikkim (India) i juni 2005. Bladene ble tørket i skyggen i 15 dager før de ble omgjort til et grovt pulver.

Forberedelse av ekstraktet

Pulveret fra bladene ble ekstrahert med metanol i et Soxhlet apparat. Etter ekstraksjonen ble ekstraktet konsentrert ved å destillere



løsningsmiddel. Det konsentrerte ekstraktet ble oppbevart i en eksikator.

Dyr som ble brukt

Wistar albino rotter (150-200 g) og sveitsiske albino mus (20-35 g) og begge kjønn ble brukt i studien. Alle eksperimentell prosedyrer ble gjort etter retningslinjer av Animal Ethics Committee (IAEC).

Antiinflammatorisk aktiviteter

Akutt modell

Ødem i labbene til rotter som er forårsaket av carrageenan (et polysakkarid).

Akutt inflammasjon ble produsert ved å injisere 0,1 ml per 100 g rotter av 1 % carrageenan i baklabbene til rottene. Metanolekstrakt av *Bischofia javanica* Blume var administrert etter et skjema som bestod av 200, 400 og 600 mg/kg. Referanse legemiddel var aspirin ved dosen 100 mg/kg, og negativ kontroll bestod av 2 % CMC 0,1 mL/100 g. Volumet til labbene hos rottene ble målt og sammenligner mellom gruppene.

Sub-kronisk modell

Indusering av granulom i rottene ved hjelp av bomulls pellet

Dyrene ble delt opp i fem grupper hvor hver gruppe består av seks rotter. To autoklaverte bomulls pelleter på 10 ± 1 mg ble plantet inn på begge siden av lyskeområdet. Metanolekstrakt av *Bischofia javanica* Blume ble gitt med en dose på 200, 400 og 600 mg/kg i syv sammenhengende dager. Aspirin ble også gitt i syv dager og 2 % CMC ble gitt som kontroll. Etter syv dager ble dyrene avlivet og pelletene ble fjernet og tørket i en ovn på 60 grader, før de ble veid og sammenlignet med kontrollen.

Kronisk modell

Indusering av artritt i rottene ved hjelp av Freund's adjuvant

Hann albino rottene ble delt i fem grupper. På dag en ble 0,1 ml av Freund's adjuvant injisert i fotsålene til alle rottene. I en av gruppene ble rottene behandlet med *Bischofia javanica* Blume i 21 dager. Størrelsene på labbene ble målt på dag 0 før behandling med legemiddelet og dag 21 etter behandling med legemiddelen. Prosentandel av inhibering av ødem ble regnet ut.

Antinociceptiv aktivitet

Opioid screening metode

Hale senking test hos musene

Sveitsiske albino mus av begge kjønn (20-35 g) ble brukt i dette studiet. Musene ble delt i fem grupper hvor hver gruppe bestod av seks mus. Ekstrakt fra *Bischofia javanica* Blume ble administrert med dosen 200, 400 og 600 mg/kg peroralt, og pentazocine ble gitt i dosen 5 mg/kg. Halene til musene som var opptil 5 cm lange ble dyppet ned i en potte av vann som lå på 55 ± 1 grader. Tiden det tok før musene trakk halene tilbake ble regnet i sekunder og ble sett som reaksjonstid. Avlesningen ble foretatt etter 0,5, 1,0 og 2,0 timer etter administrering av test legemiddelen.

NSAID screening metode

Mageutvidelse hos musene

Denne metoden ble utført ved å administrere 0,7 % eddiksyre med en dose på 0,1 ml/10 g kroppsvekt innenfor bukhinnen. Antall ganger magen ble utvidet og treffer gulvet mens musene er i bevegelse ble registrert i løpet av 15 minutter. *Bischofia javanica* Blume ble gitt med dosene 200, 400 og 600 mg/kg peroralt. Positiv kontroll var aspirin 100 mg/kg og negativ kontroll bestod av 2 % CMC. *Bischofia javanica* Blume, positiv kontroll og negativ kontroll ble gitt til musene før eddiksyre.

Resultat

Antiinflammatorisk effekt

Metanolekstrakt av *Bischofia javanica* Blume førte til en signifikant reduksjon av labbvolumet etter administrasjonen av carrageenan sammenlignet med kontrollen. *Bischofia javanica* Blume på 600 mg/kg reduserte inflammasjon med 41,83 %, mens kontrollen (aspirin) reduserte 45, 83 %

Ekstraktet viste også signifikant antiinflammatorisk effekt ved dosene 400 og 600 mg/kg i modellen hvor granulom ble indusert av bomulls pelleter. Dosen på 600 mg/kg reduserte inflammasjon med 50,27 %, mens kontrollen reduserte med 60,83 %

I modellen med Freund´s adjuvant indusert artritt viste *Bischofia javanica* Blume også tegn til antiinflammatorisk effekt. Dosene 400 og 600 mg/kg reduserte inflammasjonen med 29,95 og 50,24 %. Kontrollen hadde en reduksjon på 61,20 %.

Antinociceptiv effekt

Bischofia javanica Blume med dosen 600 mg/kg viste en signifikant analgetisk effekt etter 0,5, 1,0 og 2,0 timer.

I NSAID screening metoden ble resultatet slik at ved dosen 200 mg/kg viste *Bischofia javanica* Blume en signifikant effekt ($p < 0,005$). Og ved dosen 600 mg/kg hadde ekstraktet en svært signifikant effekt i forhold til kontrollen ($p < 0,001$).

2.4 Betulinic Acid and Its Derivatives, Potent DNA Topoisomerase II Inhibitors, from the Bark of *Bischofia javanica* [14]

DNA Topoisomeraser II er enzymer som har blitt satt som målet innen legemiddelutviklingen mot kreft. Betulinsyre og dets derivater som er isolert fra *Bischofia javanica* Blume ble her testet for dets inhiberende effekt på Topoisomerase IIs aktiviteter.

Fremgangsmåte

Plantematerial

Barken av *Bischofia javanica* Blume ble hentet inn fra Okinawa Prefecture Forestry Experiment Station i Japan, i september 2002.

Opphakket bark fra stengelen på omtrent 3,5 kg ble ekstrahert med CHCl_3 i 1 uke. Ekstraktet ble senere satt gjennom kromatografi på silika gel for å kunne separere forbindelsene. Disse forbindelsene ble identifisert ved hjelp av deres NMR, MS og fysikalsk-kjemiske dataer sammenlignet med publiserte dataer.

Eksemplarer av DNA Topoisomeraser ble skaffet inn fra TopoGen, Inc. (Columbus, Ohio).

Supercoiled pBR 322 plasmid DNA ble hentet inn fra Toyobo (Osaka). Etoposide ble skaffet fra SIGMA Chemicals.

A549 er celler som ble brukt i cytotoxikologiske undersøkelser, ble hentet inn fra Resource Center for Biomedical Research, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University.

Resultat

1. Betulinsyre (3β -hydroxylup-20(29)-en-28-oic acid) (8)
2. Betulonsyre (9)
3. 3β -O-(Z)-coumaroylbetulinsyre (10)
4. 3β -O-(E)-coumaroylbetulinsyre (11)

Lista over består av betulinsyre og dets derivater som ble isolert fra *Bischofia javanica* Blume. Betulinsyre har tidligere blitt rapportert som en Topoisomerase II hemmer. Derivatene derimot var isolert for første gang fra *Bischofia javanica* Blume og har dermed ikke fått bekreftet effekt på Topoisomerase II.

Forbindelsene 1-4 viste en inhiberende effekt på den katalytiske aktiviteten av Topoisomerase II ved en konsentrasjon på 100 μM .

Inhiberende effekt av forbindelsene 1-4 ble registrert til å være doseavhengig, når forskjellige konsentrasjoner av disse forbindelsene ble tilsatt til reaksjonsblandingen.

Forbindelse	IC ₅₀ -verdi
1	56,1 μM
2	7,1 μM
3	0,51 μM
4	0,38 μM
Etoposide	52,4 μM

IC₅₀ er et mål på effektivitet av en forbindelse til å inhibere en biologisk eller biokjemisk funksjon. [15]

Ut fra tabellen er det slik at forbindelse 1 har en god inhiberende effekt sammenlignet med Etoposide, som er en Topoisomerase II hemmer. Generelt sett sier disse tallene at forbindelsene 1-4 er potensielle DNA Topoisomerase II hemmere.

Forbindelsene 1-4 er vurdert til å være katalytiske inhibitorer, og derfor spekuleres det også om disse forbindelsene også inneholder cytotoxikologiske aktiviteter.

Under den cytotoxikologiske undersøkelsen med A549 viste forbindelsene 1-4 cytotoxiske aktiviteter, men det er nødvendig med flere studier for å støtte denne spekulasjonen.

2.5 Anti-microbial activity of *Bidens pilosa*, *Bischofia javanica*, *Elmerillia papuana* and *Sigesbekia orientalis* [16]

Bischofia javanica Blume ble her testet for dets antimikrobielle aktiviteter.

Fremgangsmåte

Plantematerial

Bladene fra *Bischofia javanica* Blume ble samlet inn i juni 1998 fra Bulolo. Bladene ble identifisert ved Forestry Department, PNG University of Technology, Lae.

Forberedelse av plantematerialet

Plantematerialet ble ekstrahert med etanol.

Fraksjoner ble skaffet ved oppdeling av Soxhlet etanolekstrakter av tørket plantematerial med petroleter, CH₂Cl₂ og EtOAc.

Mikroorganismer

Bakterier, protozoer og sopper (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *C. tropicalis* og *Trichophyton mentagrophytes*) som ble brukt var hentet fra Microbiology Laboratory of the Department of Applied Science in Lae.

Resultat

Ingen av ekstraktene eller fraksjonene viste effekt mot soppene som ble brukt i studien.

Ekstraktene fra stengelen og barken fra roten av *Bischofia javanica* Blume var inaktive.

Alle ekstraktene viste en viss effekt mot bakteriene og protozoen i studien. Fraksjonering førte til at effekten økte drastisk.

3) Konklusjon og diskusjon

Bischofia javanica Blume er tradisjonell brukt i Burma som et antiseptisk middel.

I Kina har planten blitt brukt til å fjerne tarmgass, for å øke blodsirkulasjonene og dempe hevelse. Planten ble også brukt til å fjerne toksin og påvirke qi.

I Viet Nam har planten blitt brukt mot leukorrhoea (hvit utflod), vulvovaginitis (inflammasjon av vagina), *Trichomonas vaginalis* (protozo i klassen flagellater; forårsaker trichomonasinfeksjon), byller og brennkopper. Utrekk av tørket blader behandlet også diaré, samtidig som det også ble brukt mot gingivitt (betennelse i tannkjøttet), tannverk, hoste og sår hals.

På Fiji har væsken fra stilken av planten blitt gitt til barn som ikke har begynt å gå ved en alder av to for å få de til å gå. Barken har også blitt brukt til å behandle magesår, munnsår og soppinfeksjon på foten.

På øya New Guinea ble bladene brukt til å behandle magesmerter.

I Tonga ble infusjon av barken brukt til å behandle unge barn med munninfeksjoner. Juicen fra barken ble også applisert på brannskader.

På Futuna ble planten også brukt mot munninfeksjoner hos barn.

Munninfeksjon hos barn var også indikasjonen i Samoa. I tillegg ble væsken av bladene også brukt til å behandle pterygium og andre øyeinfeksjoner.

På Salomon Islands ble kambium (delingsvev/lateral meristem) brukt til å behandle tuberkulose.

Gren, kvist av planten ble brukt til å behandle tannmark i Øst Sikkim.

Blant stammene av Chhattisgarh og Sikkim har saften fra bladene blitt brukt til å behandle kreftsår.

Studier

Bischofia javanica Blume ble testet for treets spiringsevne og vekst regulerende egenskaper. Resultatet viste at *Bischofia javanica* Blume har denne effekten. Ved en konsentrasjon på 0,1 % viste det tegn på spiring inhiberende effekt hos hagereddik.

Bischofia javanica Blume var blant 65 metanol planteekstrakter fra Sumatra regnskogen som ble testet *in vivo* for effekt mot rundormen *Bursaphelenchus xylophilus* (antinematodal effekt). Studien viste at *Bischofia javanica* Blume var blant de 27 planteartene som hadde positive effekter.

I en annen studie ble *Bischofia javanica* Blume undersøkt for sin antiinflammatorisk og antinociceptiv effekt. Studien viste at *Bischofia javanica* Blume utøvte disse effektene blant Wistar albino rotter (150-200 g) og sveitsiske albino mus (20-35 g) av begge kjønn som ble brukt i studien.

Videre ble forbindelser fra *Bischofia javanica* Blume testet som potente DNA Topoisomeraser II hemmer. DNA Topoisomerase II er et enzym som har blitt nevnt til å kunne spille en stor rolle i kreftbehandlingen. Ut fra tabellen nevnt i oppgaven er det slik at disse forbindelsene som kommer fra *Bischofia javanica* Blume viste effekt på dette enzymet. Dette medfører at disse forbindelsene kan være potensielle DNA Topoisomeraser II hemmere.

I studien hvor *Bischofia javanica* Blume ble undersøkt for sin antimikrobielle effekt, viste ekstraktene og fraksjonene ingen effekt mot soppene som ble brukt i studien. Mot bakteriene og protozoen viste ekstraktene en svak effekt.

Ut ifra de studiene som er tilgjengelige er det kun studien som undersøkte *Bischofia javanica* Blumes antiinflammatorisk og smertestillende effekt som kan vitenskapelig bekrefte bruken av *Bischofia javanica* Blume tradisjonell sett. Men flere studier må til, blant annet studier på mennesker må gjennomføres for å gi tradisjonell bruken en bredere støtte.

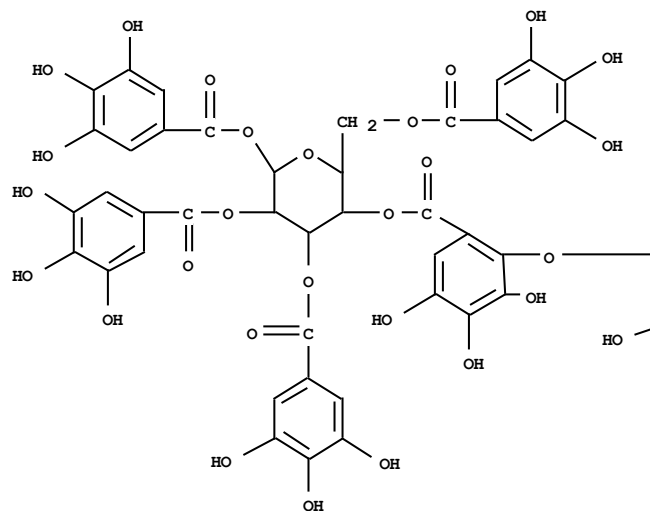
Det ble også funnet en studie som undersøkte plantens antibakteriell effekt. Denne effekten sammen med antiinflammatorisk effekten kan ses i sammenheng med indikasjonen brukt mot hudsykdommer som planten ble brukt til. Men siden resultatene fra studien var ikke overbevisende, må det gjennomføre flere studier før tradisjonell bruken kan få en vitenskapelig bekreftelse.

Bischofia javanica Blume er en plante som har interessante påståtte egenskaper, blant annet i behandlingen av kreft. Dette gjør at videre undersøkelse av planten kan føre til at vi i fremtiden muligens kan få nytte av de påståtte egenskapene.

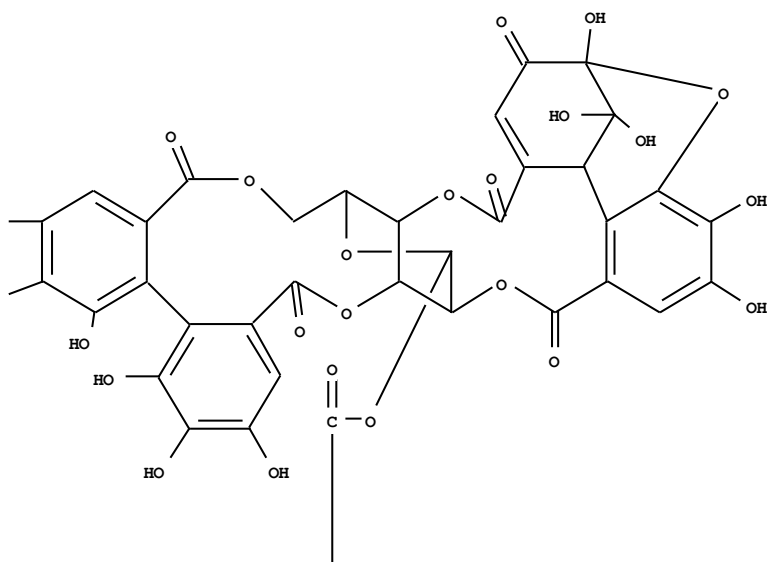
4) Kjemiske strukturer

1: Bischofianin

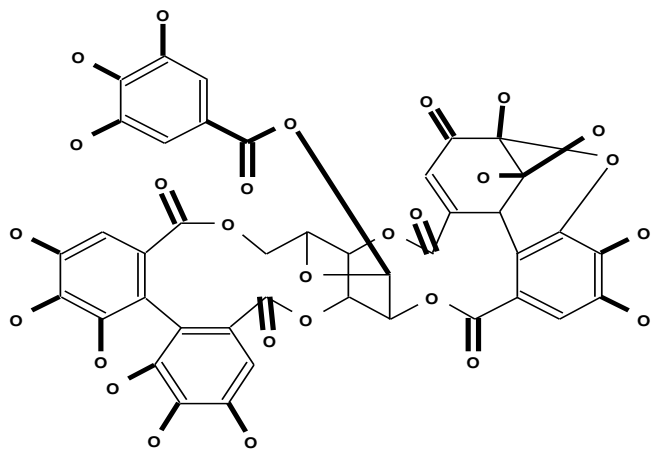
PAGE 1-A



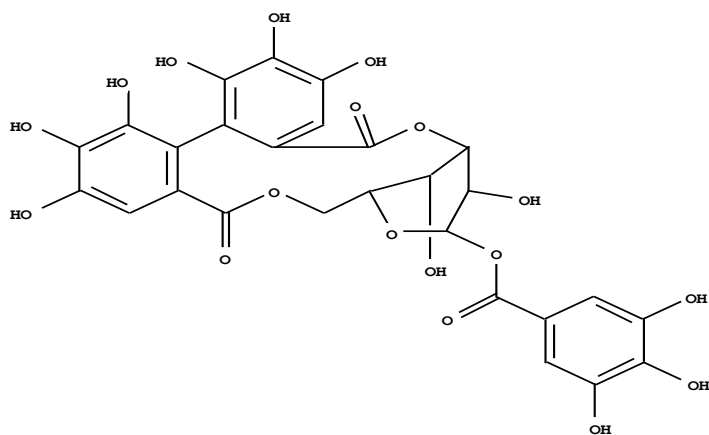
PAGE 1-B



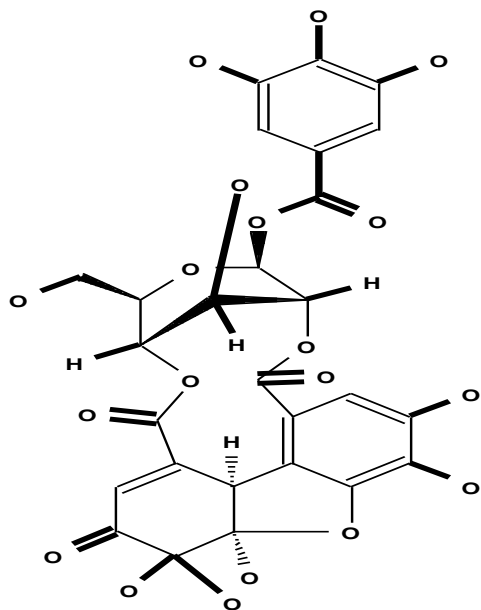
2: Geraniin (skjelettet)



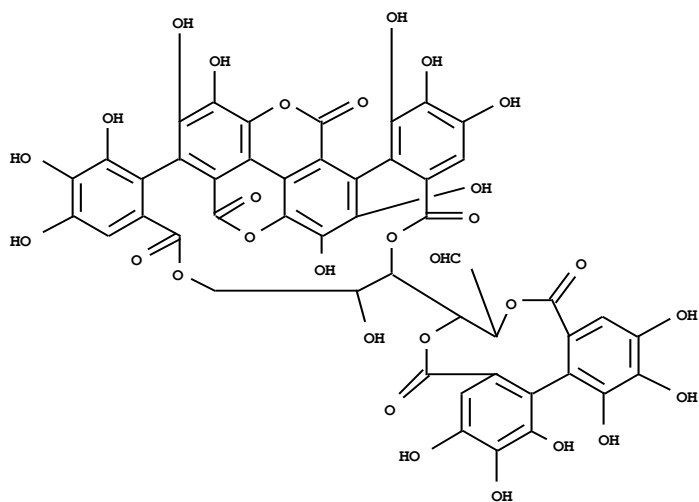
3: Corilagin

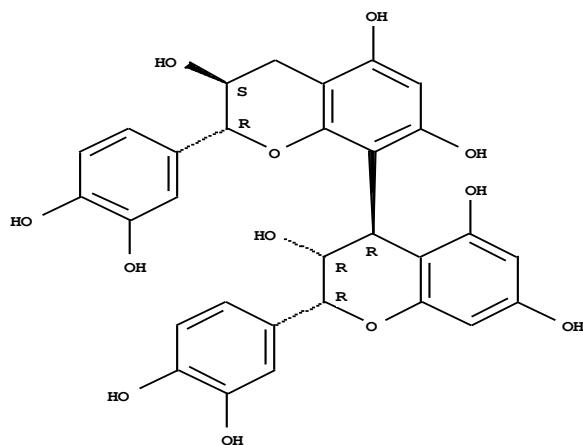


4: Furosin (skjelettet)

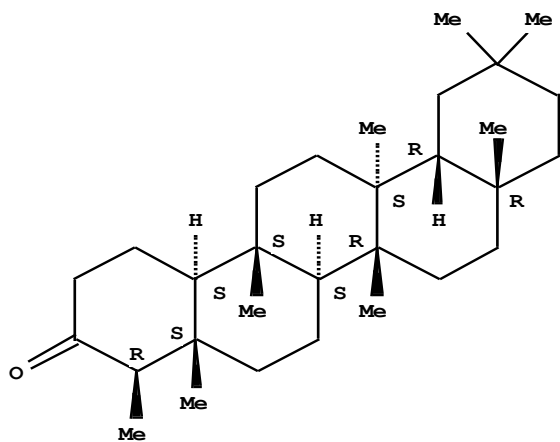


5: Punicalagin

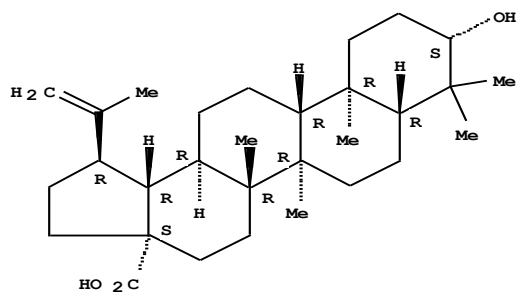




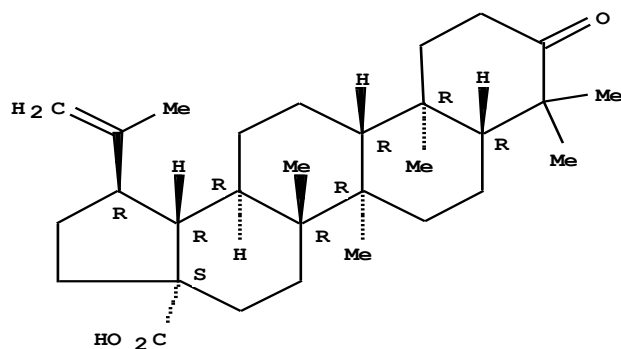
7: Friedelin



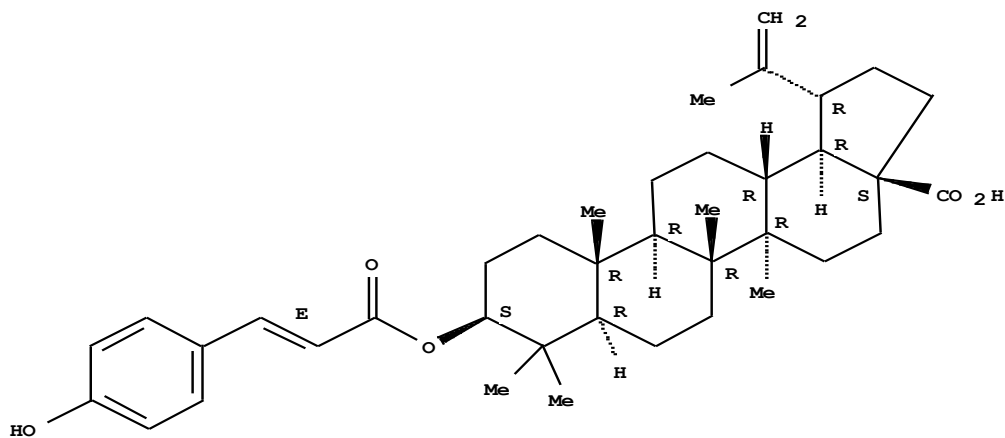
8: Betulinsyre (β -hydroxylup-20(29)-en-28-oic acid)



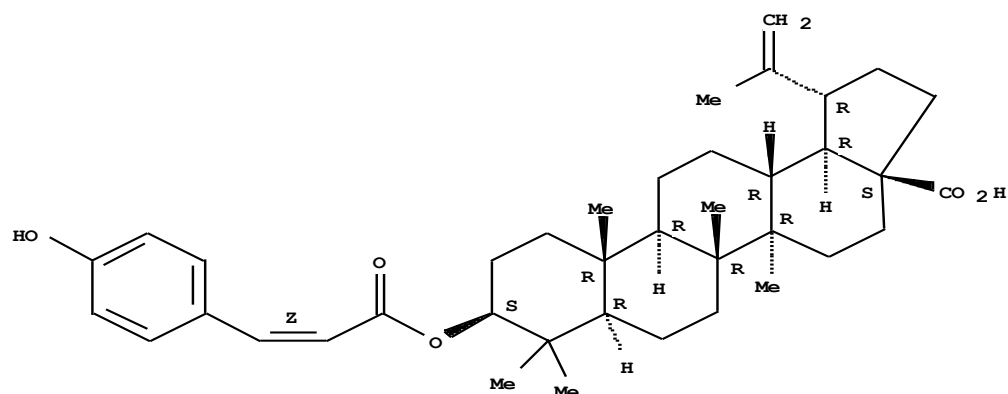
9: Betulonsyre



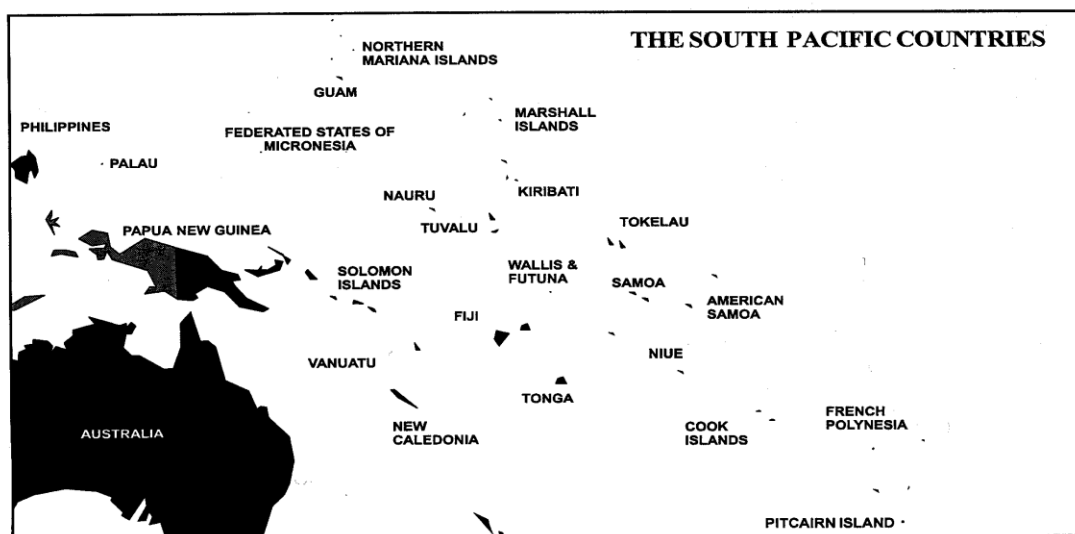
10: β -O-(E)-coumaroylbetulinsyre



11: 3 β -O-(Z)-coumaroylbetulinsyre



3)



Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Yan, X., Zhou, J., and Xie, G.: *Traditional Chinese Medicine - Molecular Structures, Natural Sources, and Applications*. Ashgate Publishing Limited, Hampshire 1999, s. 722 & s. 887.
3. Ukjent: *World Agroforestry Centre*.
URL:<http://www.worldagroforestry.org/sea/Products/AFDbases/af/asp/SpeciesInfo.asp?SpID=1783>, 29.09.08.
4. Ukjent: *Medicinal Plants In The South Pacific*. bind 19, WHO Regional Publications, Western Pacific Series, Manila 1998, 25.
5. Lingadurai, S., Nath, L. K., Kar, P. K., Besra, S. E., and Joseph, R. V.: *Anti-inflammatory and antinociceptive activities of methanolic extract of leaves of Bischofia javanica Blume on experimental animals*. Asian Journal of Chemistry, 2007. **19**(7), 5150-5156.
6. Ukjent: *Traditional and Modern Medicine*.
URL:<http://traditionalmed.blogspot.com/2007/08/bischofia-javanica-blume.html>, 29.09.08.
7. Singh, L. and Iragi, E.: *Plants used as tooth-brushes by ethnic people of East Sikkim*. Advances in Plant Sciences, 2006. **19**(2), 561-562.
8. Gupta, D. R., Dhiman, R. P., Naithani, S., and Ahmed, B.: *Chemical investigation of Bischofia javanica Blume*. Pharmazie, 1988. **43**(3), 222-3.
9. Ohira, T. and Yatagai, M.: *Extractives from the wood and leaves of Bischofia javanica Blume*. Mokuzai Gakkaishi, 1992. **38**(2), 204-8.
10. Tanaka, T., Nonaka, G.-I., Nishioka, I., Kouno, I., and Ho, F.-C.: *Bischofianin, a dimeric dehydroellagitannin from Bischofia javanica*. Phytochemistry, 1995. **38**(2), 509-513.
11. Okuda, T., Yoshida, T., and Hatano, T.: *Constituents of Geranium thunbergii Sieb. et Zucc. Part 12. Hydrated Stereostructure and Equilibration of Geraniin*. Journal of Chemical Society, Perkin Transactions, 1982. **1**, 9-14.
12. Tanaka, T., Nonaka, G.-I., and Nishioka, I.: *Punicafolin, an ellagitannin from the leaves of Punica granatum*. Phytochemistry, 1985. **24**(9), 2075-2078.
13. Alen, Y., Nakajima, S., Nitoda, T., Baba, N., Kanzaki, H., and Kawazu, K.: *Antinematodal activity of some tropical rainforest plants against the pinewood nematode, Bursaphelenchus xylophilus*. Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences, 2000. **55**(3-4), 295-299.
14. Shun-ichi Wada, R. T.: *Betulinic Acid and Its Derivatives, Potent DNA Topoisomerase II Inhibitors, from the Bark of Bischofia javanica*. Chemistry & Biodiversity, 2005. **2**(5), 689-694.
15. Ukjent: *NIH Chemical Genomics Center*.
URL:<http://www.ncgc.nih.gov/guidance/section3.html>, 04.10.08.
16. Khan, M. R., Kihara, M., and Omoloso, A. D.: *Anti-microbial activity of Bidens pilosa, Bischofia javanica, Elmerillia papuana and Sigesbekia orientalis*. Fitoterapia, 2001. **72**(6), 662-665.

Referanser til foto av treet og bildene i teksten

Ukjent: URL: http://www.biotik.org/laos/species/b/bisja/bisja_en.html 06.05.09

Ukjent: URL: <http://traditionalmed.blogspot.com/2007/08/bischofia-javanica-blume.html>
29.09.08

2) Ukjent: Medicinal Plants In The South Pacific. bind 19, WHO Regional Publications, Western Pacific Series, Manila 1998, 25

3) Ukjent: Medicinal Plants In The South Pacific. bind 19, WHO Regional Publications, Western Pacific Series, Manila 1998, 25

***Buddleia asiatica* Lour.**



***Buddleia asiatica* Lour.**

Familie: Loganiaceae.

Botanisk navn: *Buddleia asiatica* Lour.

Synonym: *Buddleja asiatica*.

Burmesisk navn: Kyang-migo. [1]

Hindi (Simla): Newarpati. [2]

Aktiv del av planten: Bladene.

Tradisjonell bruk i Burma

Brukt ved hudsykdommer og brukt som abortmiddel. [1]

Tradisjonell bruk på Filippinene

Planten ble brukt ved hudsykdommer og som abortmiddel. [2]

Fakta om planten

Buddleia asiatica Lour. er en busk som finnes i India, Kina og sørover i Malaysia, Java (Indonesia) og Filippinene øyene. Det er veldig vanlig å finne busken i fjellene på Java. [3]

Busken finnes også i Bangladesh, Kambodsja, Hong Kong, Laos, Myanmar, Nepal, Papua New Guinea, Taiwan, Thailand og Viet Nam. [4]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

1.1 Constituents of *Buddleia Species* Leaves [5]

Framgangsmåte

Plantematerialet

Plantematerialet ble samlet inn nær Chandigarh i perioden august-september i 1978.

Bladene fra *Buddleia asiatica* Lour. ble lufttørket i skygge og omdannet til et grovt pulver.

Videre ble materialet ekstrahert med petroleter i et Soxhlet apparat.

Etter fordamping av løsningsmiddelet fra en 1 kg blader gav et bunnfall på omtrent 28.3 g som ble kromatografert over alumina. Elusjon med petroleter gav en hvit, voksaktig mikstur med et smeltepunkt mellom 75-80 grader (360 mg, n-alkanes). Elusjon med kloroform-metanol med forholdet 95:5 gav et hvit, krystallaktig bunnfall med smeltepunkt mellom 140-145 grader og en grønn farge på Liebermann-Burchardt reaksjonen (40 mg, sterols).

GLC

For å identifisere forbindelsene ble det brukt en Varian Aerograph 1440 gasskromatograf med FID (Flame Ionization Detector).

Resultat

Kromatografi av ekstraktet fra *Buddleia asiatica* Lour med løsningsmidler med økende polaritet gav en hydrokarbon fraksjon og en sterol fraksjon. Etter undersøkelsen med GLC viste det seg at hydrokarbon fraksjonen inneholdt n-alkaner. *Buddleia asiatica* Lour inneholdt 15 % $C_{29}H_{60}$, 72 % $C_{31}H_{64}$ og 13 % $C_{33}H_{68}$.

Den sterole fraksjonen ble også undersøkt ved hjelp av GLC. Her viste det seg at *Buddleia asiatica* Lour inneholdt 65 % stigmasterol og 35 % sitosterol.

1.2 Combretol from *Buddlia asiatica* seeds [6]

Framgangsmåte

Plantematerial

Frøene på omtrent 1,2 kg ble samlet inn fra skogene i Madhya Pradesh.

Frøene ble først omdannet til et grovt pulver. Pulveret ble da ekstrahert trinnvis med petroleter og alkohol. Løsningsmiddelen ble fjernet fra ekstraktene gjennom vakuum. Bunnfallet som var igjen etter vakuumbehandlingen ble kromatografert over silika gel.

Resultat

Fra petroleter ekstraktet ble det oppdaget β -sitosterol og hentriacontanone.

Fra alkoholekstraktet ble det funnet combretol, som en gulaktig og krystallaktig forbindelse.

1.3 Chemical composition of the essential oil from the flowers of *Buddleia asiatica* Lour. [7]

Framgangsmåte

Plantematerial

Friske blomster sammen med knopper av *Buddleia asiatica* Lour. ble hentet inn fra landsbyen Chitora av Sagar distriktet, M.P.

Blomstene og knoppene ble tørket i skygge og vanndampdestillert. Etter behandlingene ble det dannet en lysegul olje.

Oljen ble først undersøkt ved hjelp av TLC på silika gel G plater (20 x 20). For å identifisere en del av forbindelsene ble det brukt løsningsmiddelblandingen n-heksen:petroleter (80:20) og benzen:kloroform (85:15).

Videre ble oljen undersøkt med kolonne kromatografi over kolonne av nøytral alumina (aluminiumoksid) grad I. Oljen ble eluert trinnvis med løsningsmidler med økende polaritet.

Fraksjonen i petroleter (40-60 grader) gav to avlange flekker, i petroleter (60-80 grader) ble tre avlange flekker funnet, fem flekker ble oppdaget i benzen, tre flekker ble oppdaget i kloroform og i etylacetat ble det funnet en flekk.

Fraksjonene fra petroleter ble igjen tatt gjennom kolonne kromatografi på silika gel kolonne impregnert med 15 % sølvnitrat slik at sesqiterpeniske hydrokarboner kunne separeres.

Fraksjoner fra hvert løsningsmiddel samlet fra kolonnen, ble kromatografert over en kolonne av silika gel og separert til individuelle forbindelser etter destillering under redusert trykk.

De forskjellige forbindelsene ble identifisert ved å sammenligne retensjonstiden med kjente kontroller.

Resultat

Tjue forbindelser ble identifisert ved hjelp av fysikalsk-kjemiske, kromatografiske og spektroskopiske metoder.

Tabell

Nr.	Forbindelser identifisert	Retensjonstid (min)	% andel	Metoder brukt for identifisering
1	∞ -pinene	0,6	0,46	Fysikalske, IR, GLC.
2	Camphene	0,3	0,67	Fysikalsk-kjemisk, IR, GLC.
3	Limonene	4.0	5.10	Kjemisk, GLC, IR.
4	β -pinene	4.2	1.30	Kjemisk, IR, NMR, GLC.
5	Δ^3 carene	4.7	2.25	Kjemisk, GLC.
6	Ocimene	5.0	1.85	IR, GLC.
7	Myrcene	5.3	2.00	IR, NMR.
8	Ukjent	5.7	0,32	Uoppløselig med myrcene
9	Citronellal	6.1	1.09	Fysikalsk, kjemisk, IR, GLC.
10	γ -terpinene	6.4	5.25	Fysikalsk, GLC.
11	Thujone	8.2	5.32	Kjemisk, GLC.
12	Linalool	9.2	0,66	Fysikalsk, TLC, GLC, IR.

13	Ukjent	12.0	0,39	
14	Ukjent	13.6	0,27	
15	Citral-a	14.9	0,13	IR, NMR, GLC.
16	Citral-b	15.5	0,33	IR, NMR, GLC.
17	β -caryophyllene	16.3	14.53	Kjemisk, GLC.
18	Geranyl acetate	17.6	9.0	Fysikalsk-kjemisk, GLC, IR.
19	Ukjent	18.3	1.48	
20	Citronellol	18.5	3.30	Kjemisk, GLC, IR.
21	Limonene oxide	19.4	1.72	TLC, GLC.
22	β -caryophyllene oxide	22.0	27.32	TLC, GLC, IR.
23	∞ -cadinene	24.0	3.66	IR, NMR.
24	γ -cadinene	26.0	4.23	GLC, IR, NMR.
25	Ukjent	26.7	1.39	

1.4 Chemical Examination of *Buddleia asiatica* Lour. [8]

Framgangsmåte

Plantematerial

Friske blomster på omtrent 2 kg ble ekstrahert tre ganger med etanol. Ekstraktet ble videre fordampet til et lite volum og fortynnet med vann. Den vandige oppløsningen ble ekstrahert med eter. Eteren ble senere fjernet og bunnfallet ble vasket grundig med petroleter før den ble løst i metanol.

Resultat

Konsentrert metanol oppløsning gav et gulaktig og krystallaktig produkt, som er identisk med quercetin. Et fargeløst stoff ble oppdaget fra den vandige oppløsningen og identifisert som glykosidet linarin.

1.5 Protein and amino acid contents of *Buddleia asiatica* Lour [9]

Framgangsmåte

Plantematerial

Frøene av *Buddleia asiatica* Lour. ble hentet fra landsbyen "Chitora" i nærheten av Sagar M. P. Fettet av frøene ble fjernet ved trinnvis ekstraksjon med petroleter og benzen i et Soxhlet apparat, deretter bløtet opp med 10 % natriumklorid. Protein som ble felt ut fra det saltholdige ekstraktet ble filtrert og tørket. Omtrent 500 mg av ubehandlet protein ble hydrolysert med reflux med 100 ml HCl (6 N) i 18 timer ved 100-105 grader. Løsningen som ble samlet inn etter refluxen, ble fjernet for farge og filtrert. Hydrolysatet ble videre løst i 10 % isopropanol etter at overskudd av syren var blitt dampet vekk.

Aminosyrene ble identifisert ved hjelp av papir kromatografi. Papiret ble eluert med en blanding av n-butanol: eddiksyre: destillert vann (4:1:1). Løsningsmiddelet vandret 25 cm. Ninhydrin spray ble brukt som påvisemiddel. Flekkene ble synlige ved å oppbevare papiret i en ovn på 60 grader i 10 minutter. Til slutt ble retensjonstiden til flekkene regnet ut og sammenlignet med kjente standarder. Aminosyrene ble også bekreftet ved hjelp av TLC.

Resultat

Fra frøene hvor fettet har blitt fjernet ble det oppdaget syv aminosyrer, alanine, cystine, glycine, lysine, threonine, isoleucine og valine.

1.6 Buddlin, a new compound from *Buddleja asiatica* [10]

Framgangsmåte

Plantematerial

Ble samlet inn fra Hainan, Kina i august 1997.

Resultat

En ny forbindelse, buddlin (1), ble isolert fra planten *Buddleja asiatica*. Strukturen ble bestemt ved hjelp av spektrale bevis. Buddlin er fargeløs og har en smeltepunkt mellom 154-156 grader.

1.7 Phenylpropanoid Esters of Rhamnose from *Buddleja asiatica* [11]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantedeler som vokser over bakken ble samlet inn fra Guangxi provinsen i Kina, juli 2006.

Ekstraksjon og isolering

Lufttørket plantedeler på omtrent 12.5 kg ble knust og ekstrahert med 90 % vandig MeOH. Etter fordamping av løsningsmiddel under redusert trykk, ble det viskøse bunnfallet løst opp i H₂O. Videre ble løsningen delt opp av AcOEt for å gi et lag med AcOEt og et lag med H₂O. Begge lagene ble senere analysert med kolonne kromatografi på en SiO₂ kolonne.

Resultat

Det ble isolert fire nye forbindelser, asiatisider A-D, og fire forbindelser som var kjent fra før.

Navn på forbindelsen	Molekylformelen	Struktur
Asiatisid A	C ₁₈ H ₂₂ O ₈	3- <i>O</i> -acetyl-4- <i>O</i> -(<i>p</i> -methoxycinnamoyl)- α -L-rhamnopyranose ¹⁾
Asiatisid B	C ₁₈ H ₂₂ O ₉	3- <i>O</i> -acetyl-4- <i>O</i> -feruloyl- α -L-rhamnopyranose ¹⁾
Asiatisid C	C ₁₉ H ₂₄ O ₉	2- <i>O</i> -acetyl-4- <i>O</i> -(<i>O</i> -methylferuloyl)- α -L-rhamnopyranose ¹⁾
Asiatisid D	C ₁₈ H ₂₂ O ₈	2- <i>O</i> -acetyl-4- <i>O</i> -(<i>p</i> -methoxycinnamoyl)- α -L-rhamnopyranose ¹⁾
Buergerisid C ₁ (4- <i>O</i> -(<i>p</i> -methoxycinnamoyl)- α -L-rhamnopyranose; 5)		
<i>p</i> -methoxycinnamic acid		
Ferulic acid		
<i>O</i> -methylferulic acid		

1.8 Two new Oleanane-type Triterpenoids from *Buddleja asiatica* [12]**Framgangsmåte****Plantematerial**

Deler av planten som vokser over bakken ble samlet inn fra Guangxi provinsen i Kina, juli 2006.

Ekstraksjon og isolering

Lufttørket plantedeler (12.5 kg) ble knust og ekstrahert med 90 % vandig MeOH (40 L x 4). Etter at MeOH var blitt fjernet under redusert trykk, ble det viskøse bunnfallet separert mellom EtOAc og H₂O. EtOAc fraksjonen ble kromatografert på silika gel kolonne ved hjelp av en blanding av CHCl₃ og Me₂CO for å gi ni fraksjoner som ble behandlet videre til ni forskjellige forbindelser.

Resultat

Forbindelse	Navn
1	13,28-Epoxy-23-hydroxy-11-oleanene-3-one
2	13,28-Epoxy-21 β ,23-dihydroxy-11-oleanene-3-one
3	13,28-Epoxy-3 β ,23-O-isopropylidene-11-oleanene
4	13,28-Epoxy-3 β ,23-dihydroxy-11-oleanene
5	3 β ,23,28-Trihydroxy-11 α -methoxy-12-oleanene
6	Maslinic acid (10)
7	β -amyrin (11)
8	Oleanolic aldehyde (12)
9	Oleanolic acid (12)

Alle strukturene ble kjent ved hjelp av spektroskopiske metoder (NMR, MS, UV og IR).

1.9 *Phytochemical and biological studies of some phenolics from Buddleia asiatica Lour. and Buddleia madagascariensis Lam. Growing in Egypt* [13]

Framgangsmåte**Plantematerial**

Prøver fra *Buddleia asiatica* Lour. ble hentet inn fra El-Orman hagen, Giza, Egypt. Planteprøvene ble lufttørket, redusert til fin pulver og oppbevart i tett lukket, gyllen farget glassbeholder.

Fytokjemisk studie**Ekstraksjon og fraksjonering**

Lufttørket blader og blomster fra *Buddleia asiatica* Lour. ble grundig ekstrahert med 95 % etanol gjennom filtrering. Etanolekstraktet ble videre fordampet under redusert trykk. Bunnfallet fra ekstraktene ble deretter løst opp i varmt destillert vann og filtrert mens de fremdeles var varmt. Den vandige oppløsningen ble avkjølt og enkeltvis delt opp trinnvis med n-heksan (8x100 ml), kloroform (5x100 ml), etylacetat (8x100 ml) og n-butanol (7x100 ml). Løsningsmiddelet ble videre fordampet under redusert trykk og avfallet ble utsatt for fytokjemisk og TLC screening.

Resultat

Forbindelse	Navn
1	Apigenin (2)
2	Acacetin-7-O- β -D-glucoside (3)
3	Apigenin-7-O- β -D-glucoside (4)
4	Linarin (acacetin-7-O-rutinoside) (5)
5	Verbascoside (6)

De isolerte forbindelsene ble identifisert gjennom sammenligning av deres fysiokjemisk og spektral dataer med kjente standarder.

2) Biologiske studier**2.1 *In vitro* antifungal activity of the essential oil of *Buddleia asiatica* Lour. [14]**

Den gulaktige oljen fra blomster og knopper av *Buddleia asiatica* Lour. ble undersøkt for plantens aktivitet mot sopp.

Framgangsmåte

Metoden som ble brukt er måling av diffusjon fra filterpapir i agarskål. Agar og inkuberingsmedia ble tilsatt til Sabouraud's buljong. Videre ble blandingen inkubert i en bestemt tid. 20 ml av sterilisert Sabouraud's agar medium ble tilsatt til hver petriskål. 2 ml av 48 timer gammel buljong av sopp ble tilsatt og blandet godt med agarmediet. Sterile Whatman NO.1 filterpapir (6 mm) ble fuktet i oljen og fuktet i fortynnet olje i flere forholder som 1:50, 1:100, 1:200, med tween 80 som løsningsmiddel. Filterpapirene ble videre plassert over agarskålene. Skålene ble deretter inkubert ved 30 grader og bevart i kjølerom ved 25 grader i 2-7 dager, avhengig av veksten av soppen. Alle målinger ble utført på tre eksemplarer og gjennomsnittet av inhiberingssonen ble regnet ut.

Kontroll

Steriliserte skåler fuktet med 2 % resorcinol ble brukt som standart.

Resultat**Tabell**

Fungi	Average zone of inhibition (mm)				
	Neat oil (ufortynnet)	1:50	1:100	1:200	Resorcinol 2 %
<i>Trichoderma</i>	24	22	17	12	10
<i>Fusarium</i>	21	16	12	08	20
<i>Rhizopus nodosus</i>	11	10	06	06	08
<i>Aspergillus niger</i>	12	09	06	06	10
<i>A.fumigatus</i>	15	10	06	06	13
<i>A. flavus</i>	25	19	12	08	19
<i>Trichophyton rubrum 5S</i>	26	21	18	08	08
<i>T. rubrum 12S</i>	22	18	13	09	26
<i>Curvularia prassadii</i>	30	22	14	11	12

Tabellen indikerer at oljen har veldig god effekt mot de fleste testorganismene.

2.2 Non- Phenolic Antioxidant Compounds from *Buddleja asiatica* [15]**Framgangsmåte****Plantematerial**

Bladene fra *Buddleja asiatica* Lour. ble samlet inn fra Agriculture Botanical Garden, Cairo University i Egypt desember 2004.

Planten ble tørket i skyggen, pulverisert med en elektrisk kverner og oppbevart for å kunne utføre biologiske og kjemiske undersøkelser.

Ekstraksjon og isolasjon

1 kg av pulveriserte blader ble ekstrahert tre ganger med metanol ved romtemperatur.

Løsningsmiddelet ble fordampet under redusert trykk og gav 183 g med metanolekstrakt.

Metanolekstraktet ble videre løst opp i en liten mengde med destillert vann og deretter trinnvis med petroleter og n-butanol. Løsningsmidlene ble fordampet og gav henholdsvis petroleter ekstrakt (27 g) og n-butanolekstrakt (63 g).

Omtrent 50 g av n-butanolekstrakt ble kjørt gjennom åpen glass kolonne kromatografi. Kolonnen som ble brukt var pakket med silika gel 60, som ble brukt som adsorberende stoff. Kolonnen ble først vasket med petroleter og eluert med kloroform (100 %). Deretter ble den eluert med en stigende $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ løsning, og til slutt ble kolonnen eluert med ren metanol. Fraksjoner ved hver eluering ble videre analysert ved hjelp av TLC og gruppert i tre hovedgrupper, A-C. Gruppe A (120 mg) som ble samlet fra en kolonne eluert med forholdet 95:5 ($\text{CH}_3\text{Cl}/\text{MeOH}$) ble behandlet med en Sephadex LH-20 åpen glass kolonne og gav forbindelsen nummer 1. Gruppe B (4.73 g) og C (2.3 g) ble samlet fra kolonne eluert med forholdene 85:15 og 80:20. Begge gruppene ble behandlet med en Sephadex LH-20 åpen glass kolonne og gav forbindelsene 2-4. Forbindelsene 2 og 3 kom fra gruppe B og forbindelsen 4 kom fra gruppe C.

Antioksidant effekt

Antioksidant effekten ble analysert ved tre forskjellige analysemetoder (Determination of total antioxidant capacity, Scavenging ability towards DPPH radical og Scavenging of hydrogen peroxide). Alle fraksjonene fra metanolekstraktet, n-butanolekstraktet og alle de isolerte forbindelsene (1-4) ble testet for antioksidant effekt.

Determination of total antioxidant capacity

0,3 ml av hver prøveløsning og askorbinsyre (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ble blandet med en reagens som bestod av 0,6 M svovelsyre, 28 mM natriumfosfat og 4 mM ammonium molybdat. En blank løsning som inneholdt 3 ml av reagensen og passende volum av løsningsmiddelet brukt i prøvene, ble brukt som kontroll. Alle rørene ble kapsel og inkubert i kokende vann ved 95 grader i 90 minutter. Etter at rørene har blitt avkjølt til romtemperatur, ble absorbansen fra prøveløsningene målt mot den blanke løsningen ved 695 nm ved hjelp av en UV/Vis spektrofotometer. Antioksidant effekt ble uttrykt ved andelen som er ekvivalent med askorbinsyre.

Scavenging ability towards DPPH radical

Analysen er basert på scavenging aktivitet av DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). 2 ml av de forskjellige ekstraktene og forbindelsene ble tilsatt til 2 ml løsning av 0,1 Mm DPPH. Som kontroll ble det brukt metanol og DPPH i samme mengde som prøvene. I tillegg ble også askorbinsyre brukt som positivt kontroll. Etter 20 minutter med inkubering ved 37 grader i mørket, ble absorbansen målt ved 517 nm. Analysen ble utført på tre eksemplarer. DPPH radikal scavenging aktiviteter ble regnet ut ved hjelp av formelen: $1 - (A_{\text{prøve}}/A_{\text{kontroll}}) \times 100$. $A_{\text{prøve}}$ og A_{kontroll} står for absorbansen i de løsningene. SC_{50} er konsentrasjonen av prøven som er nødvendig for å uskadeliggjøre 50 % av DPPH radikaler, noe som også ble bestemt i analysen. Senkende absorbans i DPPH løsningen indikerer en økende DPPH radikal scavenging aktivitet.

Scavenging of hydrogen peroxide

En løsning av hydrogen peroksid (40 mM) ble laget i fosfatbuffer (pH 7.4). 3.4 ml av prøver i forskjellige konsentrasjoner (5-150 $\mu\text{g}/\text{ml}$) i fosfatbuffer ble tilsatt 0,6 ml hydrogen peroksid

løsningen. Som kontroll ble det laget en løsning med 3.4 ml av fosfatbuffer og 0,6 ml hydrogen peroksid. I tillegg ble det også laget en blank prøve for hver konsentrasjon som ble brukt til bakgrunn subtraksjon. Absorbansen av hydrogen peroksid ved 230 nm ble bestemt etter 10 minutter mot en blank løsning som inneholdt fosfatbuffer uten hydrogen peroksid. Andel prosent av scavenging aktivitet ble regnet ut med den samme formelen som i avsnitt over. SC₅₀ ble også regnet ut i denne analysen.

Resultat

Det ble isolert fire forbindelser fra n-butanol ekstrakt.

Forbindelse	Navn/Struktur
1	1- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-2-methoxy-3-(2-hydroxy-triaconta-3,12-dienoate)-glycerol (7)
2	3- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-fucopyranosyl-olean-11,13(18)-diene-3β,23,28-triol (10)
3	3- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1-3)]-β-D-fucopyranosyl-olean-11,13-(18)-diene-3β,23,28-triol (8)
4	3- <i>O</i> -[α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-[β-D-xylopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucuronopyranosyl-acid-olean-11,13(18)-diene-3β,23,28-triol (9)

Extract/compound	Total antioxidant capacity [mg equivalent to ascorbic acid/g extract]	DPPH free radical scavenging activity SC ₅₀ [μg/ml]	H ₂ O ₂ scavenging activity SC ₅₀ [μg/ml]
Methanol extract	383	16.28	23.17
<i>n</i> -Butanol extract	402	11.99	18.54
1	443	43.08	25.21
2	435	72.90	27.21
3	481	76.38	32.68
4	506	60.83	18.39

Antioxidant egenskapene av forbindelse 2-4 viste seg å være like bra som andre forbindelser i samme klasse av naturlige produkter, som har blitt studert tidligere. Disse forbindelsene eller

ekstraktene kan muligens bli brukt som tilgjengelig kilder av naturlige antioksidanter etter at deres antioksidant aktiviteter har blitt studert *in vivo*.

2.3 Novel and Known Constituents from *Buddleja* Species and Their Activity against Leukocyte Eicosanoid Generation [16]

Buddleja asiatica ble testet for plantens antiinflammatorisk effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Stilkene til *Buddleja asiatica* ble samlet inn fra fjellene av Yunnan provinsen i Kina, oktober 1997.

Forberedning av leukocyt suspensjon

En suspensjon som bestod av omtrent 85 % polymorphonuclear leukocytter (PMNs) og 15 % mononuclear celler ble hentet fra Wistar hannrotter.

Kontroll

Dazoxiben og indomethacin ble brukt som positivt kontroller for COX-inhiberingen, mens methoxyalkylthiazole ZM-211965 og methoxytetrahydropyran ZM 230487 ble brukt for 5-LOX-inhiberingen.

Buddleja asiatica (1.4 kg) ble ekstrahert med CHCl_3 under reflux (3 x 5 L), deretter fordampet under redusert trykk for å produsere 9 g av ekstrakt. Presserester fra CHCl_3 ekstraksjonen ble videre ekstrahert med MeOH under reflux for å gi 65 g ekstrakt.

Tre eksemplarer med 0,5 ml med leukocytter ble preinkubert ved 37 grader i 10 minutter med test forbindelser og ekstrakter. Test forbindelsene og ekstraktene ble satt til cellene tidligere i 5 ml av dimetylsulfokside (DMSO) eller CHCl_3 . Etter preinkuberingen ble 1 ml av calcium ionophore A23187 tilsatt DMSO for å gi en slutt konsentrasjon på 1 mM, som ble inkubert videre i 10 minutter. Cellene ble pelletert ved hjelp av sentrifugering ved 2500 g i 10 minutter ved 4 grader, og supernatantene ble samlet og nedfryst. Eksemplarene av opptinte prøver ble analysert ved hjelp av radioimunoassay for TXB_2 og LTB_4 .

Resultat

CHCl_3 ekstraktet og MeOH ekstraktet av *Buddleja asiatica* ble testet for sin hemmende effekt på 5-LOX og COX. Hemmende effekten av CHCl_3 ekstraktet var bedre enn for MeOH ekstraktet.

2.4 Phytochemical and biological studies of some phenolics from *Buddleia asiatica* Lour. and *Buddleia madagascariensis* Lam. Growing in Egypt [13]

Material for biologisk studie

Planteekstrakt

- a) **Etanolekstrakt:** 100 g fra lufttørket pulver av blader og 100 g av blomster ble hver for seg ekstrahert ved kaldt filtrering med alkohol. Løsningsmiddelet ble senere fullstendig destillert av under redusert trykk. 8 g fra blomstene og 8 g fra bladene ble løst opp hver for seg i destillert vann som inneholdt noen dråper av tween 80 for å oppnå en konsentrasjon på 100 mg/ml (w/v).
- b) **Vandigekstrakt:** 100 g fra lufttørket pulver av blader og 100 g pulver av blomster ble kokt separat med destillert vann. Videre ble ekstraktene fordampet, og 10 g av hvert bunnfall ble løst opp i destillert vann med en konsentrasjon på 100 mg/ ml (w/v).

Referanse legemidler og kjemikalier

Legemidler og andre kjemikalier som ble brukt som referanser er indomethacin, Carrageenan, Novalgin, Paracetamol, Alloxan og vitamin E.

Dyr som ble brukt i studien

Albino mus med en vekt på rundt 20-25 g og voksen hannkjønn albino rotter med en vekt på 130-150 g.

Material for antimikrobiell screening (undersøkelse)

Planteekstrakt

Vandig og etanolekstrakt av blader og blomster av *Buddleia asiatica* Lour. ble løst i DMSO for å gi en konsentrasjon på 200mg/ ml.

Mikroorganismer

Gram-negative: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* og *Pseudomonas aerrginosa*.

Gram-positive: *Staphylococcus aurous*, *Sarcoma lute* go *Bacillus subtitles*.

Syre stabile bakterier: *Mycobacterium phlei*.

Gjærsopp: *Saccharomyces cerveciae*.

Candida: *Candida albicans* og *Candida tropicalis*.

Næringsmedium

Tropicase soya agar (Difco).

Standard antibiotika

Ofloxacin; Rifampicin og Amphotricin B.

Toksikologisk undersøkelse

LD₅₀ verdien til både etanolekstraktet og vandig ekstraktet til blader og blomster av *Buddleia asiatica* Lour. ble målt. Undersøkelsen fulgte prosedyren til (Karber, G. 1931).

Antiinflammatorisk effekt

Undersøkelsen fulgte metoden som ble beskrevet av (Winter *et al.* 1962), hvor det ble brukt rotte med ødem i labbene . Ødemet er induisert av carrageenan (polysakkarid). Indomethacin, 20 mg/kg ble brukt som referanse.

Smertestillende effekt

Fulgte metoden til (Charlie *et al.* 1961). Hvor elektrisk strøm ble brukt som ubehagelig stimulus.

Febernedssettende effekt

Undersøkelsen fulgte metoden til (Buch and Alexander 1960), hvor det ble brukt gjær-indusert feber og paracetamol 20 mg/kg.

Antioksidant effekt

Antioksidant effekten ble målt ut ifra bestemmelsen av glutathion-nivået i blodet hos rotter med diabetisk som var induisert av alloxan. Metoden følger beskrivelsen av (Beutler *et al.* 1963).

Antimikrobiell effekt

Antimikrobiell effekten ble testet på mikroorganismer som ble nevnt tidligere. Metoden som ble brukt er disk diffusjonsmetoden.

Resultat

Toksikologisk undersøkelser

Plantedel	Etanolekstrakt (LD ₅₀)	Vandig ekstrakt (LD ₅₀)
Blomster	7300	7600
Blader	8100	8400

Planten ble vurdert som ikke giftig.

Antiinflammatorisk effekt

Ut ifra tabellen er det opplagt av *Buddleia asiatica* Lour. inneholder denne egenskapen.

Resultatene var ikke mye dårligere enn referanse legemiddelet.

Gruppe	Dose i mg/kg kroppsvekt	% Ødem	
		Mean±S.E.	% forandring
Kontroll	1 ml saltholdig væske	59.6±3.2	-
Etanolekstrakt av bladene	200	26.7±1.1*	55.2
Vannekstrakt av bladene	200	28.1±1.2*	52.9
Etanolekstrakt av blomstene	200	27.9±1.4*	53.2
Vannekstrakt av blomstene	200	28.8±1.8*	51.7
Indomethacin	20	21.4±1.2*	64.1

* Signifikant fra kontroll ved $P < 0.01$. S.E.: Standard error

% forandring beregnet med hensyn på kontrollgruppen

Smertestillende effekt

Ut fra tabellen ble det konkludert at *Buddleia asiatica* Lour. har smertestillende effekt til en viss grad.

Gruppe	Dose i mg/kg kroppsvekt	Volt nødvendig før behandling (zero time)	Volt som er nødvendig etter enkel oral dose			
			1 time		2 timer	
		Mean±S.E.	Mean±S.E.	% forandring	Mean±S.E.	% forandring
Kontroll	1 ml saltholdig væske	73.1±2.9	72.1±1.8	0,7	71.5±2.4	2.2
Etanolekstrakt av bladene	200	71.9±2.6	131.6±6.1*	83.0	142.5±5.2*	98.2
Vannekstrakt av bladene	200	74.3±2.5	123.5±4.7*	66.2	135.4±4.9*	82.2
Etanolekstrakt av blomstene	200	76.1±3.1	122.7±3.9*	61.2	136.1±4.5*	78.8
Vannekstrakt av blomstene	200	72.8±3.4	127.9±2.8*	75.7	131.2±3.8*	80.2
Novalgin	50	74.3±2.6	168.4±6.1*	126.6	174.3±5.9*	134.6

* Signifikant forskjell fra kontroll ved P<0.01

% forandring beregnet med hensyn til samme gruppe ved ”zero time”.

Febernedssettende effekt

Tabellen under viser resultatene fra undersøkelsen. Verdiene bekrefter at *Buddleia asiatica* Lour. har febernedssettende aktivitet.

Gruppe	Dose i mg/kg kroppsvekt	Forandring i kroppstemperatur				
		Indusert økt temperatur	1 time		2 timer	
			Mean±S.E.	% forandring	Mean±S.E.	% forandring
Kontroll	1 ml av saltholdig væske	38.6±0.4	39.2±0.6	1.6	39.4±0.5	2.1
Etanolekstrakt av bladene	200	38.8±0.3	37.8±0.1*	2.6	36.9±0.2*	4.9
Vannekstrakt av bladene	200	39.6±0.4	38.0±0.2*	4.0	37.2±0.3*	6.1
Etanolekstrakt av blomstene	200	39.7±0.3	38.3±0.3*	3.5	37.3±0.2*	6.0
Vannekstrakt av blomstene	200	39.4±0.4	38.1±0.2*	3.3	37.5±0.2*	4.8
Paracetamol	20	39.5±0.4	37.1±0.3*	6.1	36.6±0.2*	7.3

* Signifikant forskjell fra kontrollen ved $P < 0.01$. S.E.: Standard error.

% forandring beregnet med hensyn til temperatur før behandling.

Antioksidant effekt

Tabellen under viser verdiene fra undersøkelsen. Verdiene indikerer at alle prøvene som ble testet, inneholdt antioksidant effekt. Etanolekstraktet av bladene til *Buddleia asiatica* Lour. var prøven med størst effekt.

Grupper	Blod glutathione (mg %)	
	Mean±S.E.	% forskjell fra kontrollen
Kontroll (saltholdig væske)	36.3±1.3	-
Ubehandlet diabetisk	25.4±0.4*	30.02
Etanolekstrakt av bladene	34.8±1.2	4.13
Vannekstrakt av bladene	34.5±1.1	4.95
Etanolekstrakt av blomstene	34.4±0.9	5.23
Vannekstrakt av blomstene	34.2±0.8	5.78
Forbindelse V (verbascosid)	34.6±0.8	4.68
Diabetisk + vitamin E. 35 mg/kg	35.1±0.6	3.30

* Statistisk signifikant forskjell fra kontrollen ved $p < 0.01$.

S.E.: Standard error.

Antimikrobiell effekt

Alle prøvene viste signifikant effekt mot Gram negative bakterier, bortsett fra etanolekstraktet som var inaktiv mot *Escherichia coli*.

Det var kun de vandige ekstraktene fra bladene og blomstene som viste effekt mot Gram positive bakterien *Staphylococcus aureus*. Etanolekstraktene var inaktive.

Både etanolekstraktet og vandig ekstrakt av blomstene viste moderate effekter mot Gram positivt bakterien *Sarcina lutea*. Derimot så viste ekstraktene av bladene svakere effekt mot *Sarcina lutea*.

Alle ekstraktene viste moderate effekter mot Gram positivt bakterien *Bacillus subtilis*, bortsett fra etanolekstraktet av bladene som viste ingen effekt.

Hos *Mycobacterium phlei* viste både etanolekstraktet og vandig ekstrakt av blomstene svake effekter. Mens ekstraktene av bladene viste ingen effekt.

Det var kun det vandige ekstraktet av bladene som viste effekt mot *Candida albicans* og *Candida tropicalis*. De andre ekstraktene viste ingen effekt.

3) Konklusjon og diskusjon

Buddleia asiatica Lour. ble tradisjonelt brukt ved hudsykdommer og som abortmiddel i Burma og på Filippinene.

Studier

Den gulaktige oljen fra blomster og knopper av *Buddleia asiatica* Lour. ble undersøkt for plantens aktivitet mot sopp. Resultatene viste at oljen hadde en god effekt mot testorganismene som ble brukt.

Forbindelser isolert fra *Buddleia asiatica* Lour. ble testet for antioksidant effekt. Resultatene viste at disse forbindelsene inneholdt antioksidant egenskaper som kan være nyttige etter at de har blitt undersøkt i *in vivo* studier.

CHCl₃ ekstraktet og MeOH ekstraktet av *Buddleja asiatica* ble testet for sin hemmende effekt på 5-LOX og COX. Hemmende effekt av CHCl₃ ekstraktet var bedre enn effekt av MeOH ekstraktet.

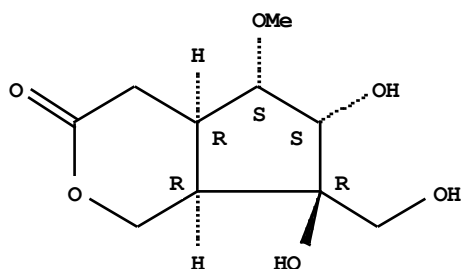
I en studie ble *Buddleia asiatica* Lour. testet for sin antiinflammatoriske, smertestillende, febernedssettende, antioksidant og antimikrobielle effekt. Studiet gav positive resultater som gir grunnlaget for videre undersøkelser.

Det ble ikke funnet studier som bekrefter at planten har en abortfremkallende effekt. Derfor må studier gjennomføres før effekten kan eventuelt få en vitenskapelig bekreftelse.

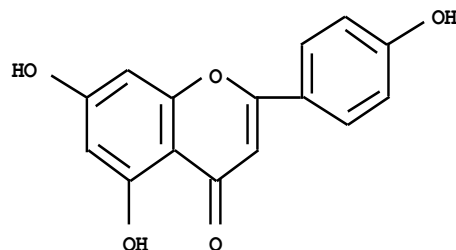
Når det gjelder indikasjonen som middel mot hudsykdommer, kan det bekreftes på grunnlag av plantens antimikrobiell, antisopp og antiinflammatorisk effekt. Grunnen til det er at mange hudsykdommer skyldes bakterier og sopp [17], derfor kan det ut fra funnet studier konkluderes med at tradisjonell bruken av *Buddleia asiatica* Lour. har en vitenskapelig støtte.

4) Kjemiske strukturer

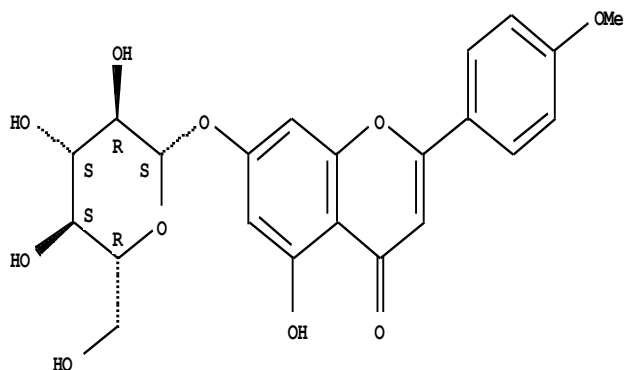
1: Buddlin



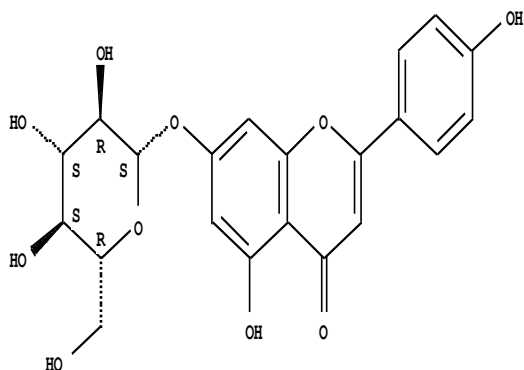
2: Apigenin



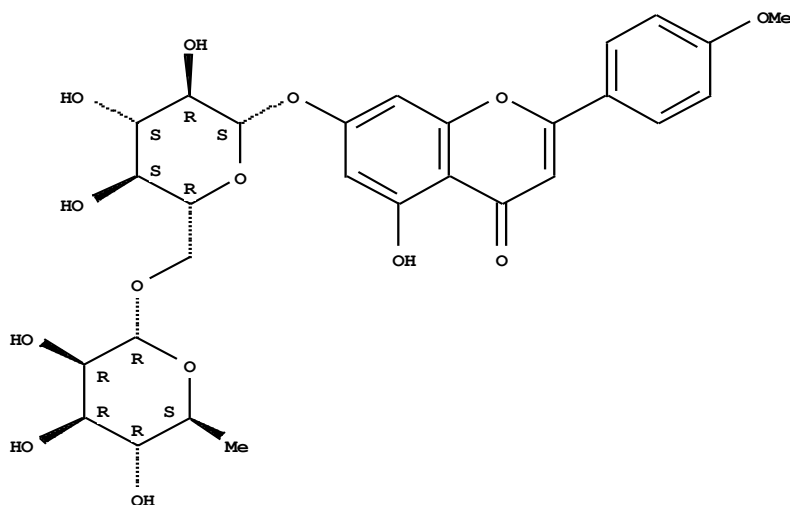
3: Acacetin-7-O- β -D-glucoside



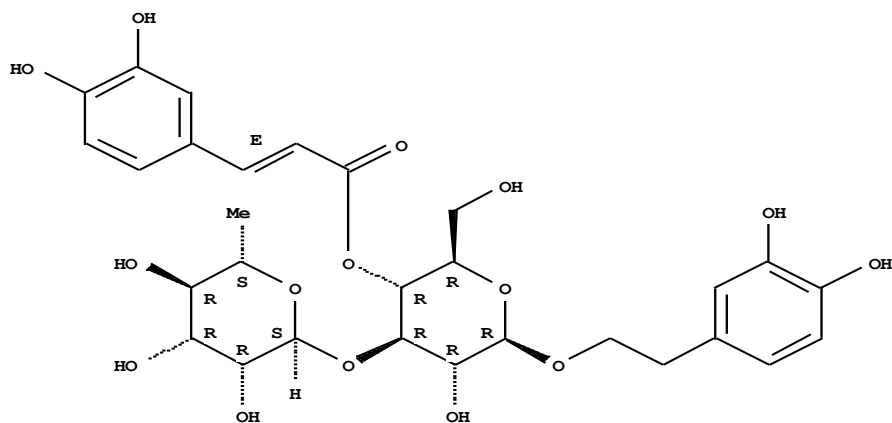
4: Apigenin-7-O- β -D-glucoside



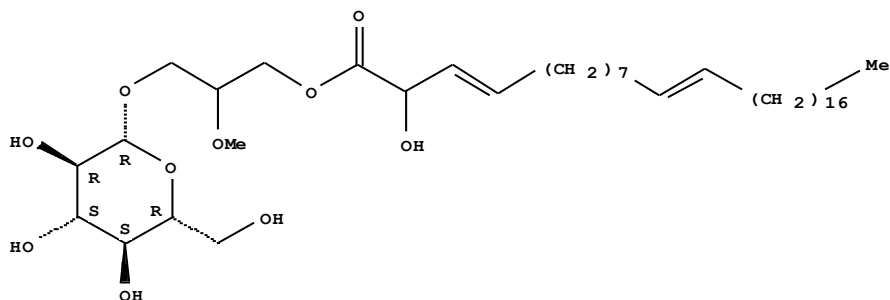
5: Linarin (acacetin-7-O-rutinoside)



6: Verbascoside

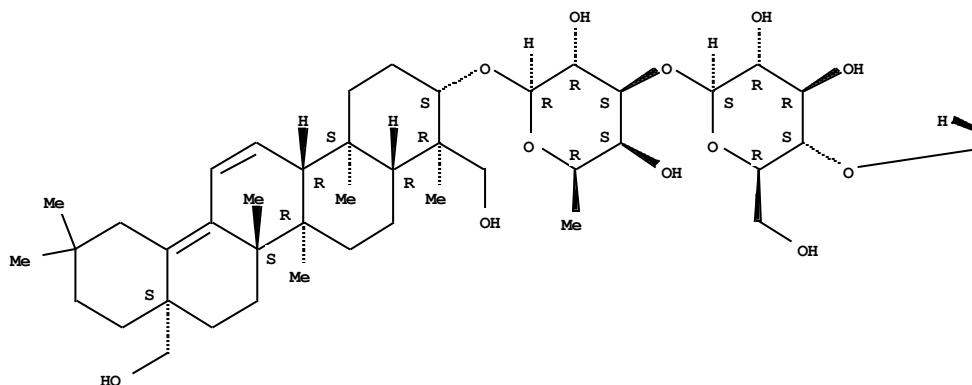


7: 1-O-β-D-glucopyranosyl-2-methoxy-3-(2-hydroxy-triaconta-3,12-dienoate)-glycerol

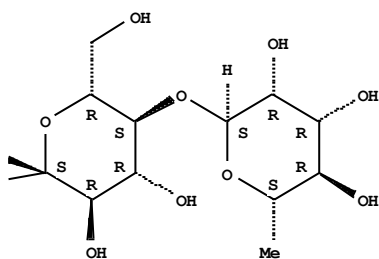


8: 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1-3)]- β -D-fucopyranosyl-olean-11,13-(18)-diene-3 β ,23,28-triol

PAGE 1-A

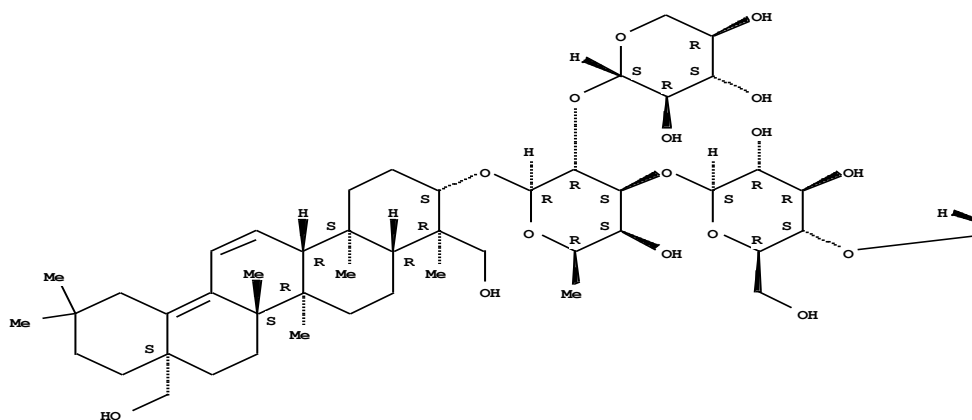


PAGE 1-B

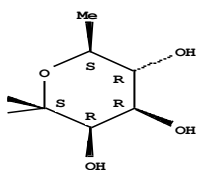


9: 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucuronopyranosyl-acid-olean-11,13(18)-diene-3 β ,23,28-triol

PAGE 1-A

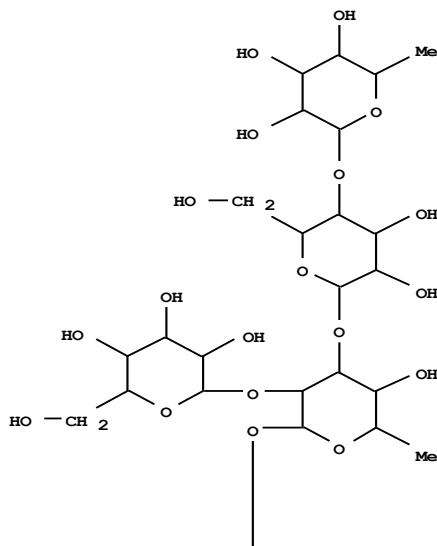


PAGE 1-B

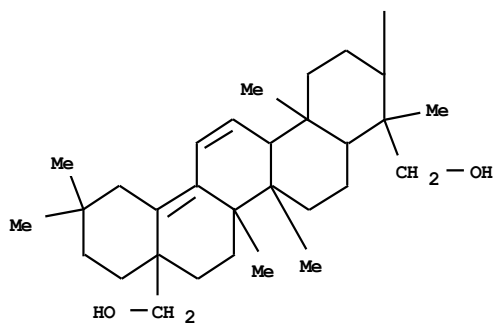


10: 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-fucopyranosyl-olean-11,13(18)-diene-3 β ,23,28-triol

PAGE 1 -A



PAGE 2 -A



Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Chopra, R. N., Nayar, S. L., and Chopra, I. C.: *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific & Industrial Research Publication, New Delhi, 1956, s. 42.
3. Burkill, I. H., M.A., and F.L.S.: *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. bind 1, Ministry of Agriculture and Co-Operatives, Kuala Lumpur 1966, s. 383.
4. Ukjent: *Aluka*.
URL:<http://www.aluka.org/action/showMetadata?doi=10.5555/AL.AP.FLORA.FZ5535&pgs=> , 11.03.08.
5. Kapoor, V. K., Chawla, A. S., Gupta, Y. C., Passannanti, S., and Paternostro, M. P.: *Constituents of Buddleia species leaves*. Fitoterapia, 1981. **52**(5), 235-7.
6. Handa, G., Nandi, L. N., and Singh, J.: *Combretol from Buddlia asiatica seeds*. Indian Drugs, 1985. **23**(2), 116.
7. Oswal, V. B. and Garg, S. C.: *Chemical composition of the essential oil from the flowers of Buddleia asiatica Lour*. National Academy Science Letters (India), 1988. **11**(11), 355-7.
8. Sharma, R. C., Kidwai, A. R., and Zaman, A.: *Chemical Examination of Buddleia asiatica Lour*. Indian Journal of Chemistry, 1963. **1**(8), 366-&.
9. Garg, S. C. and Dengre, S. L.: *Protein and amino acid contents of Buddleia asiatica Lour*. Journal of the Institution of Chemists (India), 1981. **53**(4), 182-3.
10. Chen, H., Xu, C., Liu, D. Q., An, S. Q., and Tan, R. X.: *Buddlin, a new compound from Buddleja asiatica*. Fitoterapia, 2005. **76**(6), 588-589.
11. Liu, Y.-P., Cai, X.-H., Li, W.-Q., and Luo, X.-D.: *Phenylpropanoid esters of rhamnose from Buddleja asiatica*. Helvetica Chimica Acta, 2008. **91**(7), 1299-1304.
12. Liu, Y.-P., Cai, X.-H., Du, Z.-Z., Li, W.-Q., and Luo, X.-D.: *Two new oleanane-type triterpenoids from Buddleja asiatica*. Zeitschrift fuer Naturforschung, B: Chemical Sciences, 2008. **63**(7), 915-919.
13. Fathy, M. M., Al-sofany, R. H., Kassem, H. A., and Kandil, Z. A.: *Phytochemical and biological studies of some phenolics from Buddleia asiatica Lour and Buddleia madagascariensis Lam. growing in Egypt*. Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University), 2006. **44**(2), 207-219.
14. Garg, S. C. and Oswal, V. B.: *In vitro antifungal activity of the essential oil of Buddleia asiatica Lour*. Rivista Italiana EPPOS, 1981. **63**(7), 365.
15. El-Sayed Mortada, M., Abdel-Hameed El-Sayed, S., Ahmed Wafaa, S., and El-Wakil Eman, A.: *Non-phenolic antioxidant compounds from Buddleja asiatica*. Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences, 2008. **63**(7-8), 483-91.
16. Liao, Y. H., Houghton, P. J., and Hoult, J. R.: *Novel and known constituents from Buddleja species and their activity against leukocyte eicosanoid generation*. Journal of Natural Products, 1999. **62**(9), 1241-5.
17. Bjerke, J. R.: *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell 2007*. Fagbokforlaget AS, John Grieg AS, Bergen, 2007, s. 435-458.

Referanse til foto av planten

Ukjent: URL: http://www.biotik.org/laos/species/b/budas/budas_en.html 06.05.09

***Colebrookea oppositifolia* Smith**

Colebrookea oppositifolia Smith

Familie: Labiatae.

Botanisk navn: *Colebrookea oppositifolia* Smith.

320

LAMIACEAE

Burmesisk navn: Chying-htawng-la. [1]

Hindi: Bhinda. [2]

Aktiv del av planten: Røttene. [1]

Tradisjonell bruk i Burma

Planten har blitt brukt mot epilepsi og som et antiseptisk middel. [1]

Tradisjonell bruk i Kina:

I Yunnan provinsen i Kina ble planten brukt til behandling av brudd, traumatiske skader og reumatoid artritt. [3]

Tradisjonell bruk i India:

I India ble røttene brukt mot epilepsi og bladene til sårtilheling. [2]

Fakta om planten:

Colebrookea oppositifolia Smith er en subtropisk plante som befinner seg for det meste i de bakkete dalene av India. Planten befinner seg også i områdene fra Peshawar til Sikkim, Bihar, sentral India og mellom Deccan halvøy opp til Travencore. Plantene befinner seg i områder opp til 4000 m høy. Planten er på ca. 1-3 m og grenete. [2, 4, 5]



Figure 320. *Colebrookea oppositifolia* Smith, 羽等木 yu e mu. —1. Fruiting branch. —2. Flower. —3. Opened corolla showing stamens. —4. Opened calyx adaxial view. —5. Pistil. —6. Female flower. —7. Female flower opened corolla showing stamens. —8. Female flower opened calyx adaxial view. —9. Female flower pistil. —10. Bract whorl. —11. Fruiting calyx. —12. Nutlet abaxial view. (FOC 264; FRPS 66: 389, pl. 80. 1977. —王利生 Wang Lisheng).

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

1.1 *Chemical Investigation and Pharmacological Screening of the Roots of Colebrookea oppositifolia* Smith [4]

Undersøkelser av røttene til *Colebrookea oppositifolia* Smith viser at den inneholder triacontane, triacontanol, β -sitosterol og to andre sjeldne flavoner viz. 5,6,7-tri- og 5,6,7,4'-tetramethoxyflavone i den ikke forsåpbare delen av petroleter ekstrakt. I den forsåpbare delen ble det funnet palmitinsyre, stearinsyre og oljesyre.

Fremgangsmåte

Plantematerial

Skyggetørket pulver av røttene ble ekstrahert med petroleter (60-80 °C). Det konsentrerte ekstraktet ble forsåpet med etanolisert KOH (0,5 mol/l) og hydrolysatet ble ekstrahert med eter.

Resultat

Tabell 1

Forbindelse	Løsningsmiddel	Smeltepunkt [°C]	Struktur
1	Petroleter (60-80 °C)	66	Triacontan (acetone)
2	Petroleter/C ₆ H ₆	68	Triacontanol (acetone)
3	C ₆ H ₆	135-137	β -sitosterol (CH ₃ OH)
4	C ₆ H ₆ /CHCl ₃	164-165	5,6,7-trimethoxyflavon (acetone)
5	CHCl ₃	141-142	5,6,7,4'-tetramethoxyflavon (acetone)

Palmitinsyre, stearinsyre og oljesyre ble funnet ved at den vannløselige delen først ble nøytralisert med fortynnet H₂SO₄ og senere ekstrahert med eter.

1.2 *Flavonoid glycosides from Colebrookea oppositifolia* [6]

To nye flavonoid glykosider har blitt isolert fra barken av *Colebrookea oppositifolia* Smith. Negletein 6-*O*- β -D-glukopyranosid (1) og 5,7,2'-trihydroxyflavon 2'-*O*- β -D-glukopyranosid (2)

er strukturformlene til de nye flavonoid glykosidene. Tidligere er det funnet tre flavonoid aglykoner. Chrysin(5,7-dihydroxyflavon) (3), negletein(5,6-dihydroxy-7-methoxyflavon) (4) og ladanein(5,6-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavon) (5) er navnene på disse forbindelsene.

Fremgangsmåte

Metanolekstrakt av barken til planten ble kromatografert flere ganger på silika gel for å kunne gi de fem forbindelsene.

2) Biologiske studier

2.1 Chemical Investigation and Pharmacological Screening of the Roots of *Colebrookea oppositifolia* Smith [4]

Røttene til *Colebrookea oppositifolia* Smith ble også brukt til farmakologisk screening i mus. Hovedeffekten ble observert til å være CNS stimulering med økt eksplorativ oppførsel og økt hastigheten av respirasjonen. Samtidig ble den motoriske koordinering hos musene redusert.

Fremgangsmåte

En suspensjon av ekstraktet i 2 % gummi arabicum i saltvann (0,9 %) ble injisert i albino mus av begge kjønn. Musene veide mellom 20g til 50g, og det ble brukt 5 mus innenfor hver gruppe.

2.2 Ethnomedicinal study and antibacterial activities of selected plants of Palpa district, Nepal [7]

Bakgrunn

Colebrookea oppositifolia Smith ble brukt som nevnt ovenfor i tradisjonell medisin mot epilepsi og som antiseptisk middel. To fulle teskjeer av en blanding av røttene ble brukt to ganger daglig i syv dager for å behandle epilepsi. Bladene ble applisert lokalt to ganger daglig i tre-fire dager for å behandle sår.

Colebrookea oppositifolia Smith var en av 25 planter som ble testet for plantens antibakteriell effekt. To gram-positive bakterier, *Bacillus subtilis* og *Staphylococcus aureus*, og to gram-negative bakterier, *Escherichia coli* og *Pseudomonas aeruginosa* er brukt i undersøkelsen.

Fremgangsmåte

Metoden som blir brukt til å se på eventuelt effekt er kalt "Disk Diffusion Assay". Den går ut på å legge en kjent mengde med ekstrakt på et filter som plasseres i for eksempel agarskål. I skålen er også bakterier tilsatt. Hvis ekstraktet har antibakteriell effekt vil det dannes en ring rundt filteret. Denne ringen er en indikasjon på at det ikke er bakterievekst rundt filteret. Dette kommer av at ekstraktet av plantene diffunderer ut i agarskålen og gir effekt på bakteriene.

Tilbereding av testekstraktene

Plantedeler som ble brukt i medisinen var tørket i skyggen og oppbevart i bomull. To gram av tørket planten ble bløtgjort i 25 ml metanol i 24 timer og filtrert gjennom Whatman filter. Denne prosessen ble gjort tre ganger for å ekstrahere de kjemiske substansene ut av plantematerialet. Filtratet ble deretter inndampet helt til det var tørt. Ekstraktet ble senere løst i 2 ml metanol. Konsentrasjonen av slutt ekstrakt var 1 g tørket plantematerial/1 ml.

Tilbereding av test filter

Test filtrene har en størrelse på 4 mm i diameteren. Disse filtrene ble mettet med planteekstrakt før de plasseres i steriliserte petriskåler ved hjelp av aseptisk teknikk. Navnet på plantene ble skrevet på undersiden av petriskålene.

Positiv kontroll

Filtre ble dyppet i en løsning av tetrasyklin (5 mg/ml i metanol) og tørket i en petriskål.

Negativ kontroll

Filtre ble dyppet i metanol og tørket i en petriskål.

Næringsagar

Ble tilbered ved å løse 2,8 g pulver av agar i 100 ml vann. Omtrent 25 ml av næringsagar ble helt over i en petriskål. Senere ble bakteriene overført til petriskålene.

Overføring av filtre til petriskålene

Tørket filtre ble overført til petriskålene med agar under aseptisk forhold. Petriskålene ble inkubert opp ned ved 37 grader i 24 timer, og resultatet ble registrert. Undersøkelsen ble gjort tre ganger for å sikre at resultatet er pålitelig.

Resultat

Ekstrakt av bladene til *Colebrookea oppositifolia* Smith viste ingen antibakteriell effekt på bakteriene som var med i undersøkelsen.

2.3 Antifertility studies of *Colebrookia oppositifolia* leaf extract in male rats with special reference to testicular cell population dynamics [8]

Fremgangsmåte

Plantematerialet

Bladene til planten ble samlet inn i mai 1998, fra Srinagar, India.

Tilberedning av planteekstraktet

Bladene ble tørket i skyggen og deretter pulverisert. Pulveret som var på omtrent 1 kg, ble ekstrahert med 90 % etanol. Videre ble ekstraktet konsentrert under redusert trykk for å gi et halvfast ekstrakt, som deretter ble behandlet med eter og så CHCl_3 for å fjerne fettstoffer og

fargestoffer. Resultatet var et mørkebrun ekstrakt (22 g; 2,2 %) som ble brukt i resten av undersøkelsen.

Dyr til undersøkelsen

Wistar rotter (albino) som kommer fra Jamia Hamdard, Hamdard University, New Delhi.

Studie oppsettet

Hann rotter som er vist å være fruktbare ble delt i tre grupper.

- **Gruppe I:** rottene fikk løsningsmiddel (destillert vann, 0,5 ml/per dag, peroralt) i 60 dager.
- **Gruppe II:** rottene fikk testekstrakt (100 mg/kg, peroralt) i 60 dager.
- **Gruppe III:** rottene fikk testekstrakt (200 mg/kg, peroralt) i 60 dager.

Fertilitets test

Paring mellom rottene ble utført fra dag 55 til dag 60. En hann rotte bodde sammen med tre hunn rotter for å øke sjansen til suksess paring. Funn av sperma i vaginaene hos hunn rottene ble sett på som tegn til positiv paring. Hunn rottene ble senere åpnet opp for å få oversikt over implantasjonsstedet, dette skjedde på dag 16 i svangerskapet gjennom laparotomi (operasjon der man åpner bukhulen).

Resultat

Behandling med *Colebrookea oppositifolia* Smith førte til en signifikant reduksjon av sperma konsentrasjonen i testiklene. Gruppe II med en dose på 100 mg/kg fikk en fertilitets reduksjon på 66,66 %. Gruppe III med en dose på 200 mg/kg fikk en fertilitets reduksjon på 100 %.

3) Konklusjon og diskusjon

Colebrookea oppositifolia Smith ble tradisjonelt brukt som middel mot epilepsi og som antiseptisk middel i Burma. Mens i Kina ble planten brukt til behandling av brudd, traumatiske skader og reumatoid artritt. I India ble røttene brukt mot epilepsi og bladene til sårtilheling.

Studier

Røttene til *Colebrookea oppositifolia* Smith ble undersøkt for farmakologiske effekter. Musene som ble undersøkt ble registrert for CNS stimulering med økt eksplorativ oppførsel og økt hastigheten av respirasjonen. Samtidig ble det motoriske koordinering hos musene redusert.

Colebrookea oppositifolia Smith ble testet for sin antibakterielle effekt mot to gram-positive bakterier, *Bacillus subtilis* og *Staphylococcus aureus*, og to gram-negative bakterier, *Escherichia coli* og *Pseudomonas aeruginosa*. Resultatet viste at ekstraktet fra bladene til *Colebrookea oppositifolia* ikke hadde antibakteriell effekt.

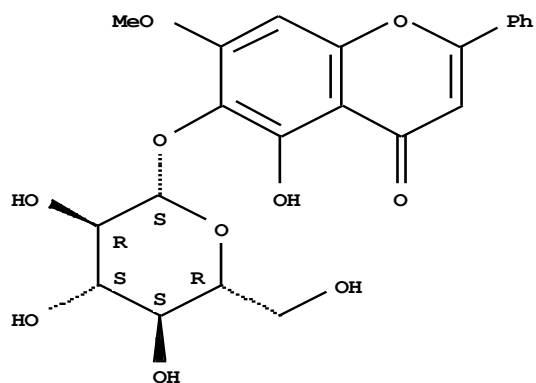
Antifertilitets studie på bladene til *Colebrookea oppositifolia* Smith blant han rotte viste effekt. Behandlingen førte til en signifikant reduksjon av sperma konsentrasjonen i testiklene hos rottene.

Plantens antibakteriell effekt ble undersøkt, og resultatet fra studien ble slik at ekstraktet av bladene ikke hadde denne effekten. Siden det er slik at mange hudsykdommer skyldes forskjellige bakterier og sopp [9] og det ble kun funnet en studie på dette området, må flere studier gjennomføres før man kan konkludere om tradisjonellbruken har en vitenskapelig støtte. Det kan eventuelt gjennomføre studier som undersøker andre plantedeler av planten, samtidig som flere bakteriearter blir tatt med i undersøkelsene.

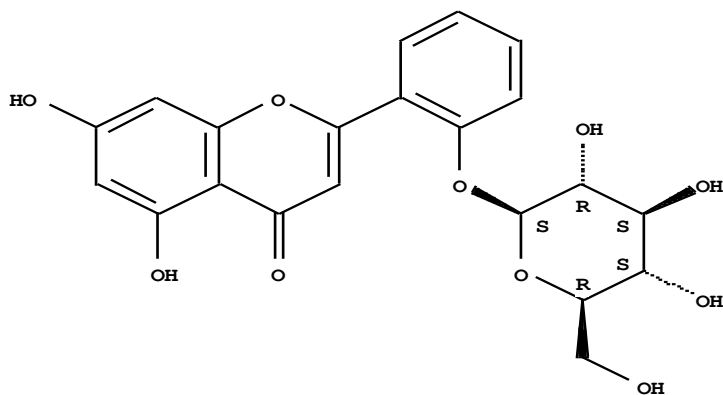
Som nevnt ovenfor så ble *Colebrookea oppositifolia* Smith også brukt til å behandle epilepsi, brudd, traumatiske skader og reumatoid artritt. På disse indikasjonene ble det ikke funnet noen studier, dermed må studier gjennomføres før man kan bekrefte om planten har disse egenskapene.

4) Kjemiske strukturer

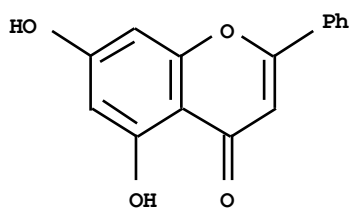
1: Negletein 6-*O*- β -D-glukopyranosid



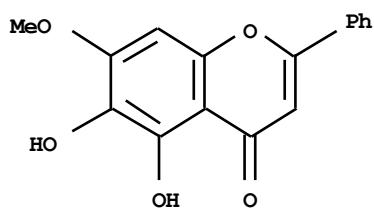
2: 5, 7, 2'-trihydroxyflavon 2'-*O*- β -D-glukopyranosid



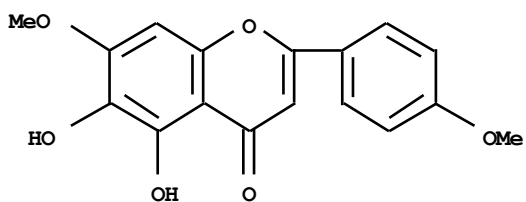
3: Chrysin



4: Negletein



5: Landanein



Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Chopra, R. N., Nayar, S. L., and Chopra, I. C.: *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific & Industrial Research Publication, New Delhi, 1956, s.74.
3. Ukjent: *Colebrookea oppositifolia* Smith. The Wealth of India; a dictionary of Indian raw materials & industrial products. Second supplement series (Raw materials), 1948-1976. **2**, 224.
4. Ansari, S., Dobhal, M. P., Tyagi, R. P., Joshi, B. C., and Barar, F. S. K.: *Chemical investigation and pharmacological screening of the roots of Colebrookia oppositifolia* Smith. Pharmazie, 1982. **37**(1), 70.
5. Ukjent: *Flora of China*.
URL: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=210000306, 25.09.08.
6. Yang, F., Li, X. C., and Wang, H. Q.: *Flavonoid glycosides from Colebrookea oppositifolia*. Phytochemistry (Oxford), 1996. **42**(3), 867-869.
7. Mahato, R. B. and Chaudhary, R. P.: *Ethnomedicinal study and antibacterial activities of selected plants of Palpa district, Nepal*. Scientific World, 2005. **3**(3), 26-31.
8. Gupta, R. S., Yadav, R. K., Dixit, V. P., and Dobhal, M. P.: *Antifertility studies of Colebrookia oppositifolia leaf extract in male rats with special reference to testicular cell population dynamics*. Fitoterapia, 2001. **72**(3), 236-245.
9. Bjerke, J. R.: *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell 2007*. Fagbokforlaget AS, John Grieg AS, Bergen, 2007, s. 435-458.

Referanse til bildet i teksten

Ukjent: *Flora of China*.

URL: http://www.efloras.org/object_page.aspx?object_id=4329&flora_id=2 25.09.08

***Eclipta alba* Hassk.**



***Eclipta alba* Hassk.**

Familie: *Asteráceae*.

Botanisk navn: *Eclipta alba* Hassk. [1]

Synonym: *Eclipta erecta* L. og *Eclipta prostrata* L. [2]

Burmesisk navn: Kyeikhman. [1]

Nepalsk: Bhumiraj. [3]

Engelsk navn: Yerbadetajo.

Kinesisk: Mo Han Lian. [4]

Sanskrit: Bhringaraja, Kesaraja.

Hindi: Bhangra.

Bengalsk: Kesuti.

Marathi: Maka.

Tamilsk: Garuga.

Telugu: Galagara. [5]

Fransk: Herbe à l'encre ("ink plant", Berhaut).

Senegal (Wolof): Élektag.

Sierra Loene (Mende): Kpawu.

Elfenbenskysten: Baule: n-dalo-blé, **Kru-bete:** grobidia, **Guere:** kleiri iwonné, klériuémé, **Nekedie:** blignablé.

Ghana (Akan-ansate): Ntum.

Nigeria: Hausa: rimin sauro, **Igbo:** àgbírìgbá òzàrà (òzàrà: of the bush), àgbílìbá òzàlà, Ijo-Izon: àgbírìgbá òbírimá, pów (òbírimá: waterside obirima), **Tiv:** ichigh-ki-usugh, **Yoruba:** abikolo, arójòkú. [6]

Sudan: Tamr al-Ghaanm. [7]

Aktiv del av planten: Hele planten.

Tradisjonell bruk i Burma

Planten ble brukt i forbindelse med kosmetikk, hudsykdommer, astma etc. [1]

Tradisjonell bruk i Tehrathum distrikt, Øst Nepal

Hele planten ble brukt som brekningsmiddel, avføringsmiddel og brukt mot gulsott. [8]

Tradisjonell bruk i Kina

Plantedeler over bakken har effekter som å kjøle ned blod, stoppe blødning, supplere nyrene og hjelpe fram yin (fra yin og yang)

Planten ble brukt ved disse indikasjonene: blod utstøting, hoste med blod, neseblødning, blod i urin, blodig avføring, blodig dysenteri (tarmsykdom) og blødning fra knivskader. Andre bruksområder er: for tidlig grått hår, difteri, grumsete urin, vaginal utflod og kløe ved ytre kjønnsorgan. [4]

Tradisjonell bruk i India

Planten ble brukt som styrkemiddel (tonic) og avføringsmiddel i levermose og milt forstørrelse, brukt som brekningsmiddel.

Juice fra planten ble brukt i kombinasjon med aromatiske stoffer i behandling av gulsott.

Bladene ble brukt i behandling av skorpionstikk.

Juice fra bladene ble brukt sammen med honning som kur for katarr i spedbarn.

Roten ble brukt som brekningsmiddel og som antiseptisk middel på åpne sår og sår/skade hos storfe. [5]

Bladene ble også brukt i forbindelse med hudsykdommer. [9]

Tradisjonell bruk i Ghana

Ekstraktet ble brukt i behandling av forstoppelse.

Tradisjonell bruk i Nigeria

En infus/ekstrakt har blitt gitt for å behandle diaré.

Bladene ble brukt i behandling av kutt og sår.

Saften fra røttene ble tatt for å behandle sykdommer av lever, milt og vatersott (ødem).

Tradisjonell bruk i Elfenbenskysten

Planten ble brukt i behandling av barnediaré. Den ble redusert til en pasta i varmt vann og gitt som en klystér.

Bladene ble brukt i behandling av tarmlødning, gulsott og krampe hos unge barn.

Bladene ble også brukt til å behandle kutt og sår.

Tradisjonell bruk i Sierra Leone

Bladene ble brukt til å ta på kutt og sår.

Tradisjonell bruk i Tanganyika

Tørket, pulveriserte blader ble strødd over skader som en slags dekke på såret.

Uttrekk av røttene ble tatt for å behandle smerter i underlivet.

Tradisjonell bruk i Kongo

Saften fra bladene ble tatt for å behandle bronkiale sykdommer. Saften ble også blandet med saften fra ananas og pimento (allehånde) og brukt til å massere områder med ødem og nyresmerter.

Tradisjonell bruk i Senegal

Røttene ble brukt innvortes til å behandle leversykdommer. [6]

Tradisjonell bruk i Singapore

Bladene ble tørket og fordøyet med varmt kokosnøttolje for å få håret til å vokse.

Tradisjonell bruk i Malaya

Kokte blader ble brukt for å behandle tannsmert.

Tradisjonell bruk i Java

Planten ble brukt til å behandle ringorm.

Bladene ble også kokt og spist. [9]

Tradisjonell bruk i Sudan

Pulveret fra bladene ble brukt til å behandle skorpionstikk. [7]

Tradisjonell bruk hos Nath-folket av Assam

Planten/roten ble brukt til å farge håret svart.

Friske blader ble brukt i forbindelse med elefantsyke, leversykdommer og vatersott.

Juicen har også blitt brukt i forbindelse med gulsott og feber. [10]

Tradisjonell bruk i Indonesia

Bladene til *Eclipta alba* Hassk. ble brukt i forbindelse med behandling av kreft. [11]

Tradisjonell bruk i Vietnam

Planten ble brukt som et blodstillende middel. [12]

Tradisjonell bruk i den sørlige delen av Tamilnadu, India

Planten ble brukt til å behandle giften fra slangebitt. [13]

Fakta om planten

Planten er en vanlig urt som finnes i fuktige områder gjennom hele India, og opptil en høyde på omtrent 1800 km (1.8288 km). [5]

I tillegg til de landene/områdene som er nevnt under tradisjonell bruken, finnes planten også i følgende land: Belize, Bolivia, Karibia, Kina, Ecuador, El Salvador, Gabon, Guatemala, Honduras, Madagaskar, Mexico, Panama og USA. [2]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

Eclipta alba Hassk.

1.1 Coumestans as the Main Active Principles of the Liver Drugs *Eclipta alba* and *Wedelia calendulacea* [14]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet er hentet fra Himalaya Drug Co., Bombay, India.

Ekstraksjon og isolering

475 g av tørket og pulverisert plantedeler ble ekstrahert med metanol i et Soxhlet apparat. Løsningsmiddelet ble fjernet og ekstraktet ble suspendert i vann og varmet opp på et dampbad, for å fjerne voksaktige stoff. Etter filtrering ble vannfasen ekstrahert med etylacetat. Videre ble den organiske fasen tørket med natriumsulfat og løsningsmiddelet fordampet. 2 g av etylacetat fraksjonen ble fraksjonert ved hjelp av kolonne kromatografi på silika gel.

Resultat

Forbindelse 1: Apigenin. (1)

Forbindelse 2: Wedelolakton. (2)

Forbindelse 3: Demetylwedelolakton. (3)

1.2 Estimation of wedelolactone and demethylwedelolactone in *Eclipta alba* Hassk. By improved chromatographic analysis [15]

Framgangsmåte

Plantematerial

Friske planter av *Eclipta alba* Hassk. ble samlet inn i juni 2000 fra Horticulture (Medicinal and Aromatic Plants), GKVK, UAS, Bangalore. Hele planten ble tørket forsiktig i en vakuum ovn under 65 grader i 48 timer.

Ekstraksjon

2.5 g av fint pulverisert *Eclipta alba* plante ble ekstrahert med HPLC grad metanol (25 x 6 ganger) og konsentrert til 100 ml.

Estimering av wedelolakton og demetylwedelolakton ble gjort ved å injisere separat 20 µl av 200 µg/ml respektive metanolløsning i HPLC og retensjonstiden ble målt.

Resultat

Hensikten med denne undersøkelsen er å utvikle en hurtig, selektiv, enkelt, og nøyaktig med høy besluttsomhet HPCL metode for å estimere wedelolakton og demetylwedelolakton fra *Eclipta alba*. Dette målet er blitt oppnådd i løpet av denne studien.

1.3 Taraxastane glycosides from *Eclipta alba* [16]

I denne studien ble det isolert fire nye taraxastan triterpen glykosider.

Framgangsmåte

Plantermaterial

Eclipta alba (1.6 kg) ble skaffet i Nanjing i Kina i 1992.

Ekstraksjon og separasjon

Prøvene ble først ekstrahert med MeOH, deretter ble den konsentrert under redusert trykk for å gi et residuum (123 g). Videre ble residuet separert mellom benzen og vann. Den vandige fasen ble fjernet for å gi et residuum som ble undersøkt med CC på MCI gel CHP-20P eluert med H₂O, 40 % MeOH, 60 % MeOH, 80 % MeOH og 100 % MeOH.

Resultat

Navn: Eclalbasaponin VII

Struktur: 3β,16β,20β-trihydroxytaraxastane 3-O-β-D-glucopyranoside

Navn: Eclalbasaponin VIII

Struktur: 3β,20β,28-trihydroxytaraxastane 3-O-β-D-glucopyranoside

Navn: Eclalbasaponin IX

Struktur: 3-O-(2-O-sulphonyl-β-D-glucopyranosyl) 3β,16β,20β-trihydroxytaraxastane

Navn: Eclalbasaponin X

Struktur: 3-O-(2-O-sulphonyl-β-D-glucopyranosyl) 3β,20β,28-trihydroxytaraxastane

**1.4 The Steroid, Triterpenoid and Flavonoid Constituents of *Eclipta Alba* (L.) Hassk.
(Compositae) Grown in Egypt [17]**

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn i mars (1978, 1979) i El-Zagazig.

Isolering

2.5 kg av pulveriserte plantedeler (over bakken) ble ekstrahert ved romtemperatur med lett petroleum og 95 % etanol.

Lett petroleumsekstraktet ble kromatografert på en alumina kolonne eluerte med CCl₄, CCl₄-CHCl₃ og CHCl₃.

Etanolekstraktet ble delt opp mellom CHCl₃ og vann. Vannekstraktet ble videre ekstrahert med etylacetat og gav 15 g med residuum, mens kloroformekstraktet gav 60 g med residuum. Videre ble begge ekstraktene kromatografert på silika gel kolonne.

Resultat

Lett petroleumsekstrakt av *Eclipta alba* Hassk. gav en phytosterol "A" med molekylform C₂₉H₄₈O og β-amyrin. Etanolekstraktet av planten gav wedelolakton, luteolin-7-O-glukosid, en glukosid av phytosterol "A" og et glukosid av en triterpensyre (triterpene acid).

Eclipta prostrata

1.5 Antiproliferative activity of triterpenoids from *Eclipta prostrata* on hepatic stellate cells [18]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantedeler over bakken til *Eclipta prostrata* ble skaffet fra Kyung-dong marked i juni 2004 i Seoul, Korea.

Ekstraksjon og isolering

Plantematerialet ble ekstrahert tre ganger med 80 % MeOH. Metanolekstraktet som ble dannet ble videre suspendert i H₂O og ble trinnvis delt opp av n-heksan, CHCl₃, EtOAc og n-BuOH. Videre ble disse fraksjonene behandlet på forskjellige måte for å isolere de aktuelle forbindelsene.

Resultat

Det ble isolert fem triterpenoider, en fra CHCl₃ fraksjon og fire fra n-BuOH fraksjonen.

Forbindelse 1: Echinocystic acid

Forbindelse 2: Eclalbasaponin II (5)

Forbindelse 3: Eclalbasaponin V

Forbindelse 4: Eclalbasaponin I

Forbindelse 5: Eclalbasaponin III

1.6 HIV-1 Protease and HIV-1 Integrase Inhibitory Substances from *Eclipta prostrata* [19]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra den botaniske hagen av Faculty of Pharmaceutical Science, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand.

Ekstraksjon og isolering

Hele planten ble tørket og ekstrahert med CH₂Cl₂ og MeOH ved romtemperatur. Ekstraktene ble videre filtrert og konsentrert under redusert trykk. Deretter ble det brukt forskjellige kromatografiske metoder for å isolere de aktuelle forbindelsene.

Resultat

CH₂Cl₂ ekstrakt

Forbindelse 1: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate. (8)

Forbindelse 2: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl agelate.

Forbindelse 3: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl acetate. (9)

Forbindelse 4: Ecliptal. (7)

Metanolekstrakt

Forbindelse 5: Orobol. (6)

Forbindelse 6: Wedelolactone.

Eclipta erecta

1.7 A dithienylacetylene ester from *Eclipta erecta* [20]

Framgangsmåte

Lufttørket plantematerial ble ekstrahert med Et₂O-petroleum (1:2) i 24 timer. Videre ble ekstraktet konsentrert under redusert trykk. Ekstraktet ble separert ved hjelp av CC og forbindelsene identifisert ved hjelp av TLC.

Resultat

Fra roten til *Eclipta erecta* ble det isolert forbindelsen dithienylacetylene ester.

1.8 A further dithienylacetylene from *Eclipta erecta* [21]

Roten til *Eclipta erecta* er blitt undersøkt på nytt og det er blitt funnet en dithienyl derivat.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet er skaffet fra Botanical Garden of Rajasthan University.

Ekstraksjon

Lufttørket plantematerial ble ekstrahert med Et₂O-petroleum (1:2) og konsentrert under redusert trykk. CC ble brukt til å separere forbindelsene og TLC ble brukt til å identifisere forbindelsene.

Resultat

Roten til *Eclipta erecta* gav forbindelsen diisovalerate i tillegg til dithienylacetylene ester (som nevnt ovenfor).

2) Biologiske studier

***Eclipta alba* Hassk.**

2.1 Coumestans as the Main Active Principles of the Liver Drugs *Eclipta alba* and *Wedelia calendulacea* [14]

Hensikten med studien er å undersøke leverbeskyttende effekt som *Eclipta alba* har.

Framgangsmåte

Plantematerial

Nevnt ovenfor (1.1)

Ekstraksjon og isolering

Nevnt ovenfor (1.1)

Bestemmelse av leverbeskyttende effekt og påvirkning på GPT (Glutamate Pyruvate Transaminase) aktivitet

Analysemetoden ble beskrevet av (Kiso *et al.* 1983) og (Hikino *et al.* 1984).

CCl₄ induisert celleskader

Etter inkubering (24 timer) ble cellene behandlet med 1.0 ml av 10 mM CCl₄/etanol blanding og prøveekstraktet i DMSO (0,01 ml).

GaIN induisert celleskader

Cellene ble behandlet med 1.0 ml av 0,5 mM av GaIN og prøveekstraktet i DMSO (0,01 ml)

Phalloidin induisert celleskader

Prøveekstraktet ble først tilsatt til en suspensjon av leverceller, etter 30 minutter ble phalloidin også tilsatt til suspensjonen. Etter ytterligere 30 minutter ble en alikvot leverceller suspensjon behandlet som ovenfor og cellene ble telt. Kontrollen inneholdt kun løsningsmiddel.

Formel:

$100 - (\% \text{ blærer etter behandling med prøveekstrakt} \times 100 / \% \text{ blærer etter påvirkning av kun phalloidin})$

Resultat

Resultatene fra studien viste at etylacetat fraksjonen som inneholdt wedelolakton og demetylwedelolakton, viste signifikant beskyttende effekt som var doseavhengig mot skader induisert av CCl₄ og GaIN. I analysen med phalloidin viste ekstraktet også en beskyttende effekt som var doseavhengig mot phalloidin induisert skader *in vitro*. Ekstraktet hadde en beskyttende effekt opptil 98 % med en konsentrasjon på 31 µg/ml.

2.2 Hepatoprotective effects of *Eclipta alba* on sub cellular levels in rats [22]

Leverbeskyttende effekt av *Eclipta alba* har i denne studien blitt studert på cellenivå. CCl₄ ble brukt til å indusere leverskade.

Framgangsmåte

Ekstrakt av *Eclipta alba*

Friske plantedeler av *Eclipta alba* ble ekstrahert med 50 % etanol. En vandig suspensjon av *Eclipta alba* i 2 % akasiagummi ble brukt i alle eksperimentene.

Dyr

Albino hannkjønn rotter fra slekten Charles Foster ble brukt i denne studien.

Homogenisering og sentrifugering

Dyrene ble delt i tre grupper, hvor hver gruppe fikk hver sin behandling. Deretter ble dyrene avlivet og lever ble vasket og homogenisert i en isoton sukrose løsning. Til slutt ble løsningen sentrifugert for å gi en mitokondrium fraksjon.

Enzym analyse

Enzym aktiviteter ble bestemt ved hjelp av spektrofotometriske metoder. Legemiddel metaboliserende enzymer som amidopyrin, *N*-demetylase og anilin hydroksylase ble analysert av metoden beskrevet av (Chochin og Axelrod 1959) og (Kato og Gillette 1965).

Resultat

Det ble i denne studien undersøkt effekten av *Eclipta alba* på anilin hydroksylase og amidopyrin *N*-demetylase.

Resultatene viste at ved å behandle med *Eclipta alba* før CCl₄ førte til en motvirkning av den hemmende effekten CCl₄ har på amidopyrin *N*-demetylase. Dette viser dets leverbeskyttende effekt ved å regulere nivået av enzymer som metabolisere legemiddel. Forsøket med anilin hydroksylase viste ikke god nok resultater for å si at *Eclipta alba* har en beskyttende effekt på dette enzymet. I tilfelle med glukose-6-fosfatase viste forsøket at *Eclipta alba* har en beskyttende effekt på dette enzymet. Eksperimentet med sur fosfatase og alkaline fosfatase viste også at *Eclipta alba* hadde evne til å motvirke effekten av CCl₄ på disse enzymer. Denne studien viste at *Eclipta alba* har en signifikant beskyttende effekt ovenfor levermikrosomer og samtidig regulerer mikrosomenes metaboliserende effekt på legemidler

2.3 Hepatoprotective activity of *Eclipta alba* Hassk. against paracetamol induced hepatocellular damage in mice [23]

Eclipta alba Hassk. ble undersøkt for sin leverbeskyttende effekt mot paracetamol induisert skade i mus.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble skaffet fra en lokal marked i Delhi.

Forberedelse av ekstraktet

Pulveret av planten ble ekstrahert med 50 % etanol ved hjelp av kaldt macerasjon (Pharmacopoeia of India 1985). Løsningsmiddelet ble fjernet ved lav temperatur og redusert trykk.

Dyr

Friske albino mus av begge kjønn som veide mellom 15-30 g ble brukt i denne studien.

Paracetamol induisert leverskader

Dyrene ble delt i åtte grupper. Gruppe I fungerte som kontroll og fikk 1 % akasiagummi suspensjon. Alle andre gruppene fikk paracetamol. Grupper III og IV fikk i tillegg ekstrakt fra planten, og gruppe V fikk Liv-52 sirup (for sammenligning). Dette varte i fem dager.

Resultat

Resultatene fra studien viste at ekstrakt av *Eclipta alba* Hassk. hadde en leverbeskyttende effekt. Dette kom fram ved at i behandlede gruppene var det en signifikant reduksjon i alanin aminosferase (ALT) mengden. Denne reduksjonen av ALT var doseavhengig.

2.4 Analgesic Studies on Total Alkaloids and Alcohol Extracts of *Eclipta alba* (Linn.) Hassk. [24]

Framgangsmåte

Plantematerial

Eclipta alba ble skaffet fra lokal markeds plass i Mumbai.

Forberedelse av ekstrakt

Planten ble pulverisert og 5 g av det grove pulveret ble pakket i et filterpapir rør. Røret ble plassert i et Soxhlet apparat. og ekstraksjonen ble gjort med 95 % etanol. Videre ble ekstraktet tørket på vannbad.

Kloroformekstraktet av *Eclipta alba* ble brukt som kilden til den totale mengde alkaloid, og ble undersøkt for innhold av alkaloid ved hjelp av Dragendorff and Wagner reagens.

Test dyr

I studien ble det brukt sveitsiske albino mus av begge kjønn som veide mellom 25-30 g.

Standard kontroll

1. Aspirin (300 mg/kg) ble brukt i "tail flick" og "writhing" metoden.
2. Kodein (50 mg/kg) ble brukt i hale klyping metoden.

”Haffners tail clip method (tail pinch method)” (Vogel og Vogel, 1977)

Musene ble delt i fem grupper hvor hver gruppe bestod av fem mus. Ekstraktet, negativ kontrollen og positiv kontrollen ble gitt til musene peroralt. En stoppeklokke ble brukt til å måle tiden det tok før det kom reaksjon fra musene på smertene som ble indusert.

”Tail flick method” (Vogel og Vogel, 1977; Williamson *et al.* 1996)

Musene ble delt i fem grupper hvor hver gruppe bestod av fem mus. Ekstraktet, negativ kontrollen og positiv kontrollen ble gitt til musene peroralt. Smerter ble indusert ved å dyppe 2 cm av halen ned i en varm vannbad som hadde en temperatur mellom 55-58 grader. Tiden fra neddyppingen til reaksjon ble målt og dette ble gjort hvert 30. minutt i to timer etter administrering av test substansene.

”Writhing method” (Szekely *et al.* 1997)

Gruppefordelingen og administrering av test substanser ble gjort som i de andre testene. Eddiksyre ble brukt som stimuli til å frembringe reaksjon fra musene. Fem minutter etter injiseringen ble musene observert i 20 minutter og antall vridninger ble målt for hver gruppe.

Resultat

Resultatene fra eksperimentene viste at etanolekstraktet og kloroformekstraktet av *Eclipta alba* hadde god smertestillende effekt. Etanolekstraktet viste god effekt ved en dose på 250 mg/kg og 500 mg/kg, mens kloroformekstraktet viste god aktivitet ved en dose på 150 mg/kg.

2.5 Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India [25]

Eclipta alba Hassk. var en av 78 planter som ble undersøkt for sine antimikrobielle aktiviteter.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn i perioden april-mai 1993, mars-april 1994 og mai 1995 fra forskjellige deler av den fuktige tropiske skogområdet av Western Ghat av Kerala, India. Noen få planter ble skaffet fra lokale markeder.

Forberedning av ekstraktet

Plantematerialet ble pulverisert og ekstrahert med 100 ml 80 % etanol i en time på en ultrasoniskbad. Ekstraktet ble filtrert, og filtratet ble fordampet i vakuum ved 45 grader og frysetørket til fullstendig tørrhet.

Testorganismer

Testorganismer som ble brukt var *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* og *Aspergillus niger*.

Antibakteriell analyse

Metoden som ble brukt er agar fortynningsmetoden som er beskrevet av (Vanden Berghe og Vlietinck 1991). Streptomycin 0,5 mg/ml ble brukt som positiv kontroll, og DMSO-Tris buffer 1:4 ble brukt som negativ kontroll.

Antifungal analyse

Metoden som ble brukt er agar-brønn diffusjonsmetoden som er beskrevet av (Verpoorte *et al.* 1982). Testorganismer er tidligere nevnt *Candida albicans* og *Aspergillus niger*. I denne analysen ble Amfotericin B 0,25 mg/ml brukt som positiv kontroll, og DMSO-Tris buffer 1:9 ble brukt som negativ kontroll.

Resultat

Resultatene fra analysene viste at bladene fra *Eclipta alba* Hassk. hadde en antibakteriell effekt. Ekstraktet hadde effekt mot alle testorganismene. Analysen på antifungal effekt viste at *Eclipta alba* Hassk. hadde en hemmende effekt mot *Candida albicans*. Men mot *Aspergillus niger* hadde ekstraktet ingen effekt.

2.6 Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants [26]

I denne studien ble det studert antimikrobiell aktivitet av diklormetan:metanol-ekstrakt (1:1) av 61 plantearter mot mikroorganismer, inkludert Gram-positive og Gram-negative bakterier og sopper.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra forskjellige områder av India.

Forberedelse av ekstraktet

Plantematerialet ble tørket ved romtemperatur og pulverisert. Omtrent 10 g av pulveret ble ekstrahert med en blanding av diklormetan og metanol under reflux i 30 minutter. Deretter ble ekstraktet filtrert. Videre ble filtratet konsentrert til tørke under redusert trykk ved 45 grader.

Mikroorganismer

Bacillus cereus var *mycoides*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*,

Klebsiella pneumoniae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* og *Aspergillus niger*.

Antimikrobiell analyse

Antibakteriell og antifungal aktivitet ble undersøkt ved hjelp av agar fortynningsmetoden. Denne metoden er beskrevet av (Mitscher *et al.* 1972). Diklormetaneekstraktet av planten ble testet ved to konsentrasjoner, 500 µg/ml og 1000 µg/ml i næringsagar (NA) eller i Sabouraud dektrose agar (SDA). Testekstraktene ble blandet med næringsmediet og fordelt ut på petriskålene. Deretter ble testorganismene stryket ut i skålene. Skålene ble inkubert ved 37 grader (bakterier) og 28 grader (sopper). Etter 24 timer (bakterier) og 48 timer (*Candida albicans*) ble skålene undersøkt. Som negativ kontroll ble det brukt løsninger med kun DMSO, og som positiv kontroll ble det brukt ciprofloksacin (bakterier) og amfotericin-B (sopp).

Resultat

Resultatene viste at *Eclipta alba* Hassk. hadde ikke noen form for antibakteriell og antifungal effekt. Ekstraktet gav ingen hemmende effekt på mikroorganismene i studien.

2.7 In vitro screening of Indian medicinal plants for antiplasmodial activity [27]

Eclipta alba Hassk. var blant medisinske planter som ble undersøkt for effekt mot *Plasmodium falciparum*.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra Rajasthan i India. Dette skjedde i tørke perioden fra 20.februar til 24.mars 1998.

Forberedelse av ekstrakt

Tørket plantematerial ble pulverisert og ekstrahert med 5 ml 99 % EtOH i et ultrasonisk bad i 1 time. Løsningen ble sentrifugert og fordampet. Tørket ekstrakt ble løst opp i dimetylsulfoksid (DMSO) til en konsentrasjon på 20 mg planteekstrakt/ml.

Testorganisme

En klorokinfølsom stamme fra *Plasmodium falciparum* (3D7) ble brukt i undersøkelsen.

Analyse av antiplasmodial aktivitet

Analysemetoden som ble brukt er beskrevet av (Chen *et al.* 1994) med forandring som er beskrevet i (Cranmer *et al.* 1997). Alle brønnene på en plate med 96 brønner (96-well microtiter plate) ble først fylt opp med 50 µl av erytrocytt med parasitt ved en konsentrasjon på 5×10^8

celler/ ml. Deretter ble 50 µl av medium med ekstraktene i fire konsentrasjoner tilsatt. Prøvene ble inkubert ved 37 grader i 48 timer. Tjuefire timer før slutten av inkuberingen, ble 20 µl av L-[2,3,4,5,6-³H]phenylalanin (37 µl/ml) tilsatt til prøvene. Effekten av ekstraktene ble målt i form av andelen av L-[2,3,4,5,6-³H]phenylalanin som ble inkorporert i nukleinsyrene til parasittene.

Resultat

Planteekstrakter med en hemmende effekt på mer enn 80 % ved 100 µg/ml og 50 % ved 50 µg/ml, ble vurdert som aktive.

<i>Eclipta alba</i> Hassk.		% Inhibering (mg/ml)			
	mg tørket ekstrakt/ 80 mg tørket plantematerial	100 µg/ml	50 µg/ml	25 µg/ml	12.5 µg/ml
Plantedeler over bakken	4.60	57	30	19	
Plantedeler over bakken	1.90	45	21	14	
Roten	2.00	74	44	33	23

2.8 Antinociceptive, antiinflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study [28]

I denne studien ble farmakologiske aktiviteter til fem planter, deriblant *Eclipta alba* Hassk, sammenlignet.

Framgangsmåte

Plantematerial

I denne studien ble det brukt blader fra *Eclipta alba* Hassk. Disse ble samlet inn fra Ceará, Bahia og Pernambuco.

Ekstraksjon

Plantematerialer ble ekstrahert med 20 % etanol, fordampet og konsentrert til ønskelig konsentrasjon før bruk.

Farmakologiske eksperimenter

Alle legemidlene ble gitt peroralt ved en volum på 10 ml/kg, mens kontrollene fikk destillert vann.

Eddiksyre induisert vridning

Hannkjønn sveitsiske mus som veide mellom 25-30 g ble brukt i eksperimentet som er beskrevet av (Koster *et al.* 1959). Antall vridning ble målt etter at 0,6 % eddiksyre er gitt intraperitoneal. Før injiseringen av eddiksyre er musene behandlet med 100 mg/kg og 200 mg/kg av *Eclipta alba* ekstrakt peroralt. Dette ble gjort 60 minutter før injisering av eddiksyre.

Formalin test

Varigheten med formalin induisert labbslikking ble bestemt etter metoden beskrevet av (Hunnskaar *et al.* 1985). Musene ble injisert med formalin (1 %, 20 µl) i baklabben. Varigheten av slikkingen ble målt i to omganger, fase 1 og fase 2, hvor fase 1 var 0-5 minutter og fase 2 var 20-25 minutter etter injiseringen. Ekstrakt av *Eclipta alba* Hassk. ble gitt før formalin injiseringen. Morfin ble her brukt som kontroll.

Carrageenan og dekstran induisert ødema i rottelab

Planteekstraktet ble gitt både peroralt (100 og 200 mg/kg) og intraperitoneal (200 mg/kg) før injiseringen av carrageenan eller dekstran. Indomethacin (2 mg/kg peroralt) og cyproheptadin (10 mg/kg peroralt) ble brukt som kontroll. Graden av ødem ble bestemt som differansen i størrelse av labben før og etter injisering av nevnte forbindelser.

Bronkodilaterende effekt

Marsvin av begge kjønn ble avlivet og luftrøret ble fjernet. Videre ble den montert for isometrisk måling under en spenning på 0,5 g. Dette ble gjort i en 7 ml organ bad med Krebs-Henseleit løsning. Avslappende effekt av *Eclipta alba* Hassk. ble målt etter indusering av 0,3 µM carbachol (for å gi kontraksjon).

Resultat

Resultatene fra eksperimentene viste at *Eclipta alba* Hassk. hadde de effektene som denne studien undersøkte. Eddiksyre induisert vridning ble inhibert med 30 % (100 mg/kg) og 39 % (200 mg/kg). Carrageenan induert ødem ble redusert med 30 % og 21 %, mens dekstran induert ødem ble redusert med mellom 26-32 %.

2.9 Neuropharmacological profile of *Eclipta alba* (Linn.) Hassk [29]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble skaffet fra en naturmedisinsk butikk (Ayurvedic).

Dyr brukt i eksperimentene

I eksperimentene ble det brukt Wistar rotter av begge kjønn som veide mellom 180-225 gram.

Forberedelse av ekstraktet

Plantematerialet ble tørket og pulverisert, før den ble ekstrahert med vann og 50 % etanol i et Soxhlet apparat i 18 timer. Resultatet ble en vandig og en hydroalkoholisert ekstrakt.

Legemidler

Legemidler som ble brukt som kontroll er piracetam og diazepam.

Bevegelsestest

Metoden som ble brukt er beskrevet av (Turner 1972). Det gikk utover å måle antall ganger testdyrene krysset en lysstråle som fantes i et spesiell apparat. Testdyrene ble delt oppi flere grupper og hver gruppe fikk en bestemt ekstrakt/legemiddel. Etter 60 minutter ble dyrene testet igjen i samme apparat.

Koordinasjonstest

Metoden er beskrevet av (Kulkarni og Joseph 1997). Metoden testet rottenes koordinering og balanse ved å måle antall ganger de falt av en roterende stang i løpet av 2 minutter. En time etter administrering av ekstrakt/legemiddel ble rottene testet igjen.

”Cook’s pole apparatus”

Dette apparatet ble brukt til å måle nootropisk aktivitet hos dyrene. Apparatet brukte aktiv unngåelses paradigme for å vurdere nootropisk aktiviteten. Aktuelle ekstrakter/legemidler ble gitt dyrene i en periode på 7 dager. Evaluering av nootropisk aktivitet ble gjort etter dag 1, 3 og 7. På evalueringsdagen ble det gjort to eksperimenter, tilegnelses test og retensjons test.

Vurdering av angstdempende effekt

”Elevated plus maze”

Dette apparatet ble brukt til å vurdere angstdempende effekten av *Eclipta alba* Hassk. Det er beskrevet av (Kulkarni og Verma 1993).

”Holeboard apparatus”

Dette apparatet ble også brukt til å vurdere angstdempende effekten av *Eclipta alba* Hassk. Testforbindelsene og kontrollen ble gitt til dyrene, og etter 1 time ble de observert i apparatet i 5 minutter. Antall ganger dyrene dyppet hodet ned i hullene som finnes i det forhøyete apparatet ble registrert.

Vurdering av aktivitet av stressindusert magesår forårsaket av kulde i rotter

Denne metoden ble beskrevet av (Senay og Levine 1967). Dyrene ble som tidligere delt opp i grupper og gitt aktuelle ekstrakt/legemiddel. En time etter administreringen ble dyrene pakket i

plastiske beholder og lagt i kjøleskap ved 4-7 grader i 2 timer. Deretter ble dyrene avlivet, kuttet opp og analysert.

Evaluering av aktivitet mot melk induisert leukocytose

Anti-stress aktivitet kan bli bekreftet på grunnlag av evnen til å forhindre økning av hvite blodceller som kan indusere stress. Før administrering av testforbindelsen ble antall leukocytter målt. Deretter fikk dyrene aktuelle forbindelser, og 1 time etter det igjen fikk de melk. Etter 24 timer ble antall leukocytter målt igjen.

Resultat

Det ble også gjort en toksikologisk test på planten. Resultatet viste at begge ekstraktene var sikre opptil en dose på 800 mg/kg i rotter.

I bevegelsestesten viste det seg at alle testekstraktene ikke induserte signifikant hemmende effekt. Det samme skjedde i koordinasjonstesten, der det ikke økte antall fall fra stangen.

I undersøkelsen av nootropisk aktivitet ble det oppdaget at det var nootropisk aktivitet hos det vandige ekstraktet (300 mg/kg, peroralt) og dets hydrolyserte fraksjon (30mg/kg, peroralt). Dette ble vist etter 7 dager.

Resultatene fra "Elevated plus maze" eksperimentet med *Eclipta alba* Hassk. viste at planten ikke hadde angstdempende effekt sammenlignet med diazepam.

Resultatene fra "Holeboard apparatus" testen viste også at *Eclipta alba* Hassk. ikke hadde angstdempende effekt sammenlignet med diazepam.

Videre viste resultatene at *Eclipta alba* Hassk. hadde en beskyttende effekt mot magesår som ble induert ved hjelp av kulde og hemmet fysisk bevegelse.

Til slutt ble det også funnet at planten viste også en beskyttende effekt mot leukocytose som var induert av melk.

2.10 Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity [30]

Syttiseks plante ekstrakter som ble ekstrahert fra 37 indiske medisinske planter ble undersøkt for acetylcholinesterase hemmende effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Tørket plantematerial ble skaffet fra M/s Natural Remedies Pvt. Ltd., Bangalore, India.

Forberedelse av ekstraktet

Lufttørket og pulveriserte plantematerial ble først ekstrahert med metanol for å gi et metanolekstrakt, deretter ekstrahert med vann for å gi et vannekstrakt. Ekstraktene ble konsentrert i vakuum ved 60 grader for å gi et tørr ekstrakt.

Acetylkolinesterasehemmer analyse (*in vitro*)

Metoden som er brukt i denne studien er beskrevet av (Atta-ur-Rahman *et al.* 2002). Her ble eserin brukt som positiv kontroll. (Monserrant og Bianchini, 2001). En preinkubert volum på 250 µl i fosfat buffer 200 mM pH 7.7 inneholdt prøven /referanse standard av forskjellige konsentrasjoner, 80 µl av DTNB og 10 µl av enzymer (2 U/ml). Blandingen ble inkubert i fem minutter ved 25 grader. Etter preinkuberingen, ble 15 µl av substratet (acetylthiocholine iodide: 10.85 mg i 5 ml av fosfat buffer) tilsatt og inkubert igjen i fem minutter. Fargen som ble dannet ble målt i en mikrobrønn plateavleser ved 412 nm

Formel

% inhibering = (kontroll absorbans – prøve absorbans) / kontroll absorbans x 100

Resultat

Resultatene gjorde det klart at ekstrakter fra *Eclipta alba* Hassk. inneholdt ikke acetylkolinesterasehemmende effekt.

2.11 PHCOG MAG.: Research Article

Preliminary studies on the antioxidant activity of Tribulus terrestris and Eclipta alba [31]

I denne studien ble metanolekstrakt av *Eclipta alba* Hassk. undersøkt for antioksidant effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble skaffet fra Dr. Ashish Phadke fra Department of Draavyaguna, Ayurvedic Medical College, i India.

Ekstraksjon

Plantematerialet ble tørket ved romtemperatur og pulverisert. Pulveret ble ekstrahert med metanol i et Soxhlet apparat. Videre ble løsningsmiddelet fordampet under redusert trykk ved 40 grader.

Dyr

Hannkjønn Wistar rotter som veide mellom 180-220 g ble brukt i studien.

Inhibering av lipid peroksidering

Nivå av lipid peroksidering i rottens lever ble målt in vitro som TBARS, mens α -Tocopherol ble brukt som referanse standart. Graden av inhibering av lipid peroksidering ble bestemt ved å regne ut hvor mye produksjonen av Malonaldehyd (MDA) har sunket.

Hydroksyl radikal scavenger aktivitet

Hydroksyl radikal scavenger aktiviteten ble målt ved å bruke askorbinsyre, jern-EDTA modell av et hydroksyl radikal genererende system. I denne studien ble mannitol brukt som referanse standard. Hydroksyl radikal scavenger aktiviteten ble målt ved å regne ut hvor mye av produksjonen av formaldehyd som har sunket.

Redusering av 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radikal

Radikal scavenger aktiviteten av testekstraktet ble vurdert ved å tilsette 1.5 ml av etanol løsning av DPPH til en etanol løsning av testekstraktet. Kontroll prøven inneholdt kun DPPH i etanol. Fri radikal scavenger aktiviteten ble bestemt ved å regne ut andel prosent senkning i absorbansen av DPPH.

Resultat

Metanolekstraktet av *Eclipta alba* Hassk. viste en signifikant hemmende effekt av lipid peroksidering som var doseavhengig.

Ekstraktet viste også en hemmende effekt av oksidering av DMSO som var doseavhengig. Dette er tegn på hydroksyl radikal scavenger aktivitet.

Videre vist ekstraktet også en signifikant reduserende effekt av den stabile fri radikalen DPPH opptil 77.82 %. Effekten var også doseavhengig.

2.12 Systematic evaluation of natural phenolic antioxidant from 133 Indian medicinal plants [32]

Eclipta alba Hassk. var en av 133 indiske medisinsplanter som ble undersøkt for sin antioksidant effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble skaffet fra tradisjonelle medisinske butikker i Madras, India.

Forberedelse av ekstraktet

Plantematerialet ble først pulverisert ved hjelp av en Kenwood Multi-Mill og deretter ble pulveret tatt gjennom en sil. Deretter ble plantematerialet tørket i en eksikator ved

romtemperatur. Metanolekstraktet ble tilberedt ved å tilsette 50 ml av 80 % metanol til tørket plantemateriale i en kjegleformet kolbe. Kolben ble oppbevart over natten i romtemperatur med rysting i av og til. Videre ble ekstraktet filtrert gjennom en Millipore filter under vakuum ved 23 grader.

2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) analysen

Antioksidant aktivitet ble målt ved hjelp av en Spectronic Genesys 5 spektrofotometer i en forbedret ABTS metode beskrevet av (Cai *et al.* 2004) og (Re *et al.* 1999). Metoden er basert på reduksjon av 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline sulphonate) radikal.

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) analysen

Metoden som ble brukt er modifisert fra den som er beskrevet av (Brand-Williams *et al.* 1995). Metoden er basert på fjerning (scavenging) av 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radikal.

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) analysen

Analysen ble utført som beskrevet av (Benzie and Strain 1996) og (Faria *et al.* 2005) med noen modifikasjoner. Metoden er basert på reduserings kapabilitet ved økt prøve absorbans basert på dannede jern ioner.

Bestemmelse av den totale fenolinnholdet

"The total phenolic content" (TPC) i hver prøve ble målt ved hjelp av en modifisert Folin-Ciocalteu kolorimetrisk metode beskrevet av (Liu *et al.* 2002) og (Cai *et al.* 2004).

Resultat

Resultatene fra tre *in vitro* analyser (ABTS, DPPH og FRAP) viste at ekstraktet av *Eclipta alba* Hassk. inneholdt antioksidant effekt.

Det ble funnet en signifikant, positiv korrelasjon mellom antioksidant aktivitet med fenolinnhold. Dette indikerer at fenol forbindelser er en hoved bidragsyter til antioksidant aktivitet i medisinsplanter.

2.13 PHCOG MAG.: Research Article

Wound healing activity of ethanolic extract of leaves of Eclipta alba [33]

I denne studien ble etanolekstraktet av bladene til *Eclipta alba* Hassk. undersøkt for sin sårlegende effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Blader fra *Eclipta alba* Hassk. ble samlet inn fra den medisinske hagen av Dravyaguna department av D.G.M Ayurvedic Medical College & Hospital.

Forberedelse av etanolekstraktet

Bladene ble skygge tørket og pulverisert før de ble ekstrahert fullstendig med 7.5 liter av 95 % etanol i et Soxhlet apparat. Deretter ble ekstraktet konsentrert i vakuum.

Dyr

Friske Wistar albino rotter av begge kjønn som veide omtrent 150-250 g, ble brukt i denne studien.

Eksperimentene og dosene

I denne studien ble det brukt tre sår modeller og to konsentrasjoner av ekstraktet. Modellene bestod av snitts sår (incision wound), utskjærings sår (excision wound) og "dead space" sår. Konsentrasjonene som ble brukt var 150 mg/kg og 300 mg/kg.

Ekstraktene ble påført på sårene i 10 dager i modellene med snitt sår og "dead space". I modellen med utskjærings sår var behandlingstiden regnet til å være fram til skorpen falt fra såret.

Resultat

Resultatene fra studien viste at etanolekstraktet av *Eclipta alba* innholdt en sårlegende effekt. Dette ble demonstrert gjennom en signifikant økning i hastigheten av sår sammentrekningen og ved forsterket epitelisering.

2.14 Hair growth promoting activity of *Eclipta alba* in mate albino rats [34]

Hensikten med studien er å undersøke effekten av *Eclipta alba* på hårvekst initiering og forfremmelse.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn i perioden oktober-november fra området rundt Sagar, India.

Forberedelse av ekstrakt

Tørket pulver fra *Eclipta alba* ble ekstrahert med petroleter i et Soxhlet apparat. Ekstraktet ble konsentrert under redusert trykk.

Dyr

Wistar hannkjønn albino rotter som veide mellom 120-150 gram ble brukt i studien.

Behandling

Petroleter ekstraktet og etanolekstraktet ble inkorporert i salver med konsentrasjoner på 2 % og 5 %.

Rottene ble delt opp i seks grupper hvor hver gruppe fikk hver sin behandling. Som kontroll var det brukt salve uten tilsetning. Som positiv kontroll ble det brukt 2 % alkoholløsning av minoxidil. Salven ble applisert på ryggen hvor alt håret var fjernet før appliseringen. Tiden det tok for initiering og fullført hårvekst ble registrert.

Resultat

Resultatene viste at ekstraktene av *Eclipta alba* reduserte signifikant tiden det tok før hårvekst initiering startet, sammenlignet med kontrollen. Ekstraktene reduserte også signifikant tiden det tok fram til hårveksten var fullført. Petroleter ekstraktet viste effekt som var like bra som positiv kontrollen, minoxidil.

***Eclipta prostrata* L.**

2.15 *Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia* [35]

Eclipta prostrata var blant 50 medisinerplanter som ble undersøkt for antibakteriell og antisopp effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra Kuala Kangsar i Perak mellom juli 2001 og april 2002.

Ekstrakt

Plantematerialet ble ekstrahert med metanol.

Testorganismer

Bacillus cereus, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* og *Staphylococcus aureus*.

Metoden

Metoden som ble brukt til å undersøke planteekstraktene var disk diffusjonsmetoden.

Resultat

Studien viste at metanolekstraktet av *Eclipta prostrata* hadde en antibakteriell og antisopp effekt.

2.16 Antimicrobial activity of saponin fractions of the leaves of *Gymnema sylvestre* and *Eclipta prostrata* [36]

Hensikten med denne studien er å undersøke antimikrobiell effekten av ren saponin fra *Eclipta prostrata* på utvalgte sykdomsfremkallende bakterier og sopp.

Framgangsmåte

Plantematerial

Bladene fra *Eclipta prostrata* ble samlet inn fra den medisinske hagen av VIT University i India.

Ekstraksjon

Bladene ble vasket med destillert vann, skygge tørket og pulverisert. Pulveret ble først behandlet med petroleter, deretter ekstrahert med metanol. Videre ble metanolekstraktet konsentrert. For å få rå saponiner ble ekstraktet oppløst i metanol og aceton ble tilsatt for å felle ut saponinene. Bunnfallet ble tørket i vakuum og kromatografert på Merck silika gel-60 kolonne.

Testorganismer

Bakterier: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* og *Proteus mirabilis*

Sopp: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* og *Aspergillus niger*.

Antibakteriell analyse

Forsøket som ble brukt er agar diffusjon. Forsøket ble utført tre ganger og gjennomsnittet av inhiberingssonene ble sammenlignet med kontrollen (Kloramfenikol).

Antisopp analyse

Standard metoden CLSI M38-A ble brukt til å teste antisopp effekten av saponinene. Agar diffusjonsmetoden ble også brukt for å vurdere effekten. Som kontroll var det brukt Amfotericin B.

Resultat

Studien viste at saponin av *Eclipta prostrata* inneholdt antibakteriell og antisopp effekt. Blant bakteriene var det Gram-negative bakterier som var mest følsom for ekstraktet. Antisopp effekten av rå saponiner ble vist til å være mer signifikante enn markedsførte antibiotika.

2.17 Lipid lowering activity of *Eclipta prostrata* in experimental hyperlipidemia [37]

Eclipta prostrata ble i denne studien undersøkt for sin effekt mot hyperlipemi.

Framgangsmåte

Plantematerial

Planten ble skaffet fra området rundt byen Chennai i perioden mellom oktober og november.

Forberedelse av etanolekstrakt

Skyggetørket og grovt pulverisert plantedeler ble ekstrahert med 90 % etanol. Løsningsmiddelet ble destillert vekk over en kokende vannbad, og ekstraktet ble tørket i en vakuum eksikator.

Dyr

Wistar hannkjønn albino rotter som veide mellom 150- 200 g ble brukt i studien.

Antihyperlipemi analyse

Rottene ble delt opp i åtte grupper hvor hver gruppe fikk sin behandling. Clofibrate ble brukt som standart legemiddel. Forsøket varte i 30 dager, hvor forandring i kroppsvekten ble registrert hvert 5.dag. På dag 31 ble dyrene avlivet og undersøkt.

Resultat

Etanolekstraktet av *Eclipta prostrata* viste seg å inneholde en antihyperlipemi effekt. Denne effekten ble funnet til å være doseavhengig og var signifikant ved dosen 150 mg/kg.

2.18 The butanol fraction of *Eclipta prostrata* (Linn) effectively reduces serum lipid levels and improves antioxidant activities in CD rats [38]

Denne studien undersøkte lipidsenkende og antioksidant effektene til *Eclipta prostrata*.

Framgangsmåte

Forberedelse av ekstraktet

Butanolekstraktet av *Eclipta prostrata* ble laget ved å ekstrahere rå metanolekstrakt trinnvis med kloroform, etanol, etylacetat og butanol. Butanolekstraktet ble konsentrert ved fordamping, tørket ved frysetørking og oppbevart ved -20 grader til bruk.

Dyr

Charles River Sprague-Dawley CD rotter ble brukt i studien.

28 rotter ble tilfeldig delt opp i fire grupper, og hver gruppe ble behandlet med fire forskjellige forsøks dietter som bestod av standard gnager diett supplerte med høy fett og kolesterol innhold i

seks uker. Forsøks diettene ble blandet med 25 mg, 50 mg eller 100 mg per kg av frysetørket *Eclipta prostrata* ekstrakt. Kontroll dietten inneholdt ikke ekstraktet.

Resultat

Toksikologisk effekt

Det ble ikke oppdaget mortalitet blant behandlede rotter i forsøket.

Serum triacylglycerol, total kolesterol, LDL-kolesterol, og HDL-kolesterol

Serum triacylglycerol ble signifikant redusert i gruppene med 50 mg og 100 mg ekstrakt sammenlignet med kontrollen. Serum total kolesterol ble også signifikant redusert i gruppene med 50 mg og 100 mg. Nivået av LDL-kolesterol var også signifikant redusert sammenlignet med kontrollen. Derimot var nivået av HDL-kolesterol signifikant høyere i grupper med ekstraktet. Tegn på aterosklerose ble også signifikant redusert i grupper med 50 mg og 100 mg sammenlignet med kontrollen.

Serum hydroksyl radikal, lipid peroksid, og karbonyl innhold

Serum hydroksyl radikal og lipid peroksid nivåer var signifikant lavere i grupper med 50 mg og 100 mg ekstrakt sammenlignet med kontrollen. Karbonyl innhold av oksidativ modifisert proteiner var signifikant redusert i gruppen med 100 mg sammenlignet med ubehandlet kontrollgruppen.

2.19 Antiproliferative activity of triterpenoids from *Eclipta prostrata* on hepatic stellate cells [18]

Eclipta prostrata L. ble i denne studien undersøkt for sin hemmende effekt på "Hepatic stellate cells" (HSCs).

Framgangsmåte

Plantematerial

Nevnt ovenfor (1.5)

Ekstraksjon og isolering

Nevn ovenfor (1.5)

Celler

HSC-T6 celler ble brukt i studien.

Måling av celler levedyktighet

Celler levedyktighet ble anslått ved å bruke 3-(4,5-dimetylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide analysen (MTT). Testforbindelsene ble løst i dimetylsulfoksid (DMSO). HSC-T6 celler ble behandlet med testforbindelsene i 48 timer. 18β-Glycyrrhizinsyre ble brukt som kontroll. Reduksjon av MTT til farmazan ble anslått i en ELISA plate leser.

Resultat

Studien viste at forbindelsene 1 og 2 (nevnt ovenfor) inneholdt en hemmende effekt på HSC celler levedyktighet. Forbindelse 2 viste en sterkere effekt enn forbindelse 1. Det ble også vist at effekten til disse forbindelsene var dose- og tidsavhengige. På grunnlag av resultatene kan det sies at *Eclipta prostrata* hadde en hemmende effekt på celledelingen til HSC celler.

2.20 HIV-1 Protease and HIV-1 Integrase Inhibitory Substances from *Eclipta prostrata* [19]

Hensikten med denne studien er å undersøke den hemmende effekten av HIV-1 Protease og HIV-1 Integrase hos de forskjellige forbindelsene i *Eclipta prostrata*.

Framgangsmåte

Plantematerial

Nevnt ovenfor (1.6)

Ekstraksjon og isolering

Nevnt ovenfor (1.6)

Analyse av HIV-1 PR hemmende aktivitet

Metoden som er brukt er en modifisert versjon av den som er beskrevet av (Tewtrakul *et al.* 2003). Acetyl pepstatin ble brukt som positiv kontroll.

Formel: % inhibition = $(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) \times 100 / A_{\text{control}}$

A = a relative peak area of the product hydrolysate.

Analyse av HIV-1 IN hemmende aktivitet

Her ble de brukt metoden "Multiplate integration assay (MIA)" som er beskrevet av (Tewtrakul *et al.* 2001). Suramin ble brukt som positiv kontroll.

Formel: % inhibition against HIV-1 IN = $[(OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}) / OD_{\text{control}}] \times 100$

OD = absorbansen oppdaget fra hvert brønn.

Resultat

Blant de isolerte forbindelsene var det wedelolactone (6) og orobol (5) som viste en hemmende effekt på HIV-1 IN. Mens 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthinyl tiglate (1), ecliptal (4) og 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthinyl acetate (3) viste en hemmende effekt på HIV-1 PR.

2.21 *Inhibition of Proteolytic and Hemorrhagic Activities by Ethyl Acetate Extract of Eclipta prostrata Against Malayan Pit Viper Venom* [39]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantedeler over bakken av *Eclipta prostrata* ble samlet inn fra Nonthaburi i Thailand.

Ekstraksjon og identifikasjon av hoved konstituent

Plantematerialet ble ekstrahert med metanol ved 60-80 grader i et Soxhlet apparat i 48 timer. Løsningsmiddelet ble fjernet ved redusert trykk for å gi et viskøst stoff som ble suspendert i vann og varmet opp ved 80 grader. Etter behandling med etylacetat ble ekstraktet kromatografert på silika gel "quick" kolonne (E. Merck).

Dyr

Sveitsiske albino mus av begge kjønn, som veide mellom 18-20 gram og mellom 25-30 gram ble brukt i studien.

Antiblødnings aktivitet

Metoden som ble brukt er beskrevet av (Kondo *et al.* 1960). Antiblødnings effekt av wedelolactone og PEE (purified ethylacetate extract) ble beregnet som prosent inhibering. Giften og test løsningene ble brukt som kontroller. Forsøket ble utført tre ganger. MHD (minimum hemorrhagic dose) ble bestemt ved at 0,04 ml av forskjellige konsentrasjoner av giften (2 µg – 32 µg i saltholdig væske) ble gitt musene intrakutan på merket områder på dyrene. Deretter ble dyrene avlivet og skaden ble bestemt. Antiblødnings aktivitet til prøvene ble bestemt mot 3 x MHD av giften. Prøvene ble gitt intrakutan på merket områder på dyrene uten bedøvelse. Etter at dyrene var avlivet ble diameter av lesjonene målt.

Antiproteolystisk aktivitet

Modifiserte metoder beskrevet av Kunitz (1947) og Tan *et al.* (1986) ble brukt til å vurdere aktiviteten. Forsøket ble utført tre ganger. 0,05 ml av test løsningene (wedelolactone og PEE) ble preinkubert ved 37 grader sammen med en lik mengde av giften (1 mg/ml) i en time før de ble undersøkt.

Anti-fosfolipase A₂ aktivitet

Anti-fosfolipase A₂ aktivitetene til ekstraktet og wedelolactone ble uttrykt som inhiberingsprosent av aktivitetene til enzymet. Forsøket ble utført tre ganger.

Resultat

Det ble funnet at wedelolactone er hovedkonstituenten i etylacetat ekstraktet av *Eclipta prostrata*.

Resultatene fra studien viste at etylacetat ekstraktet av *Eclipta prostrata* inneholdt sterk antiproteolytisk og antiblødnings effekt mot MPV gift. Effekten viste seg å være doseavhengig. Samtidig ble det også funnet at ekstraktet viste svakt anti-fosfolipase A₂ effekt.

En annen studie som tar opp samme tema er ”*Anti-venom potential of butanolic extract of Eclipta prostrata against Malayan pit viper venom*”, skrevet av (Pithayanukul *et al.* 2004). Resultatene fra denne studien var også positive. [40]

2.22 Neutralization of lethal and myotoxic activities of South American rattlesnake venom by extracts and constituents of the plant *Eclipta prostrata* (Asteraceae) [41]

I denne studien ble *Eclipta prostrata* undersøkt for sin egenskap mot giften fra klapperslangen *Crotalus durissus terrificus*.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra øst Minas Gerais og sør Espirito Santo.

Dyr

Sveitsiske hannkjønn rotter som veide mellom 20-25 gram ble brukt i studien.

Ekstraksjon

Vandig-etanolekstrakt

Ferske plantedeler (deler over bakken) ble homogenisert i en mikser med 40 % etanol.

Etanolekstrakt

Ferske plantedeler (deler over bakken) ble grundig ekstrahert ved filtrering med 96 % etanol.

Nøytralisering av gift fra *Crotalus*

Tørr ekstrakt eller forbindelser ble oppløst i etanol eller kloroform og blandet med giften. Blandingen ble inkubert i 30 minutter ved romtemperatur før den ble injisert i musene. Musene fikk 0,2 ml per 10 g kroppsvekt av enten gift løsningen eller blandingen med gift og planteekstrakt. Dødeligheten ble registrert opptil 24 timer.

In vivo eksperimenter

Gift fra *Crotalus durissus terrificus* ble oppløst i saltløsning (0,85 % NaCl), og ble injisert i låret til musene. Kontrollen bestod av injeksjon av kun saltløsningen. Eksperimentene ble utført etter to protokoller, A og B. I protokoll A ble giften oppløst i saltløsning og inkubert sammen med det vandige ekstraktet av *Eclipta prostrata* i 15 minutter før injiseringen (i.m.) i musene. I protokoll B ble planteekstraktet injisert (i.p.) 15 minutter før giften ble injisert (i.m.). I alle eksperimentene ble musene lett bedøvet med eter etter 2, 4, 8, 24 timer etter injiseringen av giften og blodprøver ble tatt. Blodprøvene ble tatt for å bestemme aktiviteten til creatine kinase.

Resultat

Resultatene viste at ekstraktene av *Eclipta prostrata* nøytraliserte den dødelige effekten av giften til søramerikanske klapperslangen *Crotalus durissus terrificus*. Videre ble det også vist at planteekstraktet gav en beskyttende effekt mot myotoksisk effekt av giften. Best effekt kom som resultat fra forsøket som fulgte protokoll A.

En annen studie som tar opp samme tema er ”*Inhibition of the myotoxic and hemorrhagic activities of Crotalid venoms by Eclipta prostrata (Asteraceae) extracts and constituents*”, skrevet av (Melo *et al.* 1994). I denne studien ble det også funnet at ekstrakt av *Eclipta prostrata* har en signifikant antiblødnings effekt. Ellers var resultatene det samme som studien over.[42]

En tredje studie som behandler samme tema er ”*Ethobotanical survey of folk plants for the treatment of snakebites in Southern part of Tamilnada, India*”, skrevet av (Samy *et al.* 2008). Resultatene fra studien var også positive.[43]

3) Konklusjon og diskusjon

Eclipta alba Hassk. (*Eclipta prostrata* og *Eclipta erecta*) ble i Burma brukt i forbindelse med kosmetikk, hudsykdommer og astma.

I Øst Nepal ble planten brukt som brekningsmiddel, avføringsmiddel og middel mot gulsott.

I Kina ble planten brukt ved disse indikasjonene: blod utstøting, hoste med blod, neseblødning, blod i urin, blodig avføring, blodig dysenteri (tarmsykdom) og blødning fra knivskader. Andre bruksområder er: for tidlig grått hår, difteri, grumsete urin, vaginal utflod og kløe ved ytre kjønnsorgan.

I India ble planten brukt som styrkemiddel (tonic), avføringsmiddel og brekningsmiddel. Deler av planten ble også brukt i behandling av skorpionstikk, katarr hos spedbarn, som et antiseptisk middel hos storfe og middel mot hudsykdommer.

I Ghana ble ekstraktet brukt i behandling av forstoppelse.

I Nigeria ble planten brukt mot diaré, mot sykdommer i lever, sykdommer i milten og vatersott. I tillegg ble også planten brukt i behandling av kutt og sår.

Befolkningen i Elfenbenskysten brukte planten mot barnediaré, mot tarmlørdning, gullsott og krampe hos barn. Videre er planten også brukt til å behandle kutt og sår.

I Sierra Leone ble bladene også brukt i behandling av kutt og sår.

Bladene ble i Tanganyika brukt som en slags dekke på såret. Mens uttrekk fra røttene ble brukt mot smerter i underlivet.

I Kongo ble saften fra bladene brukt mot bronkiale sykdommer. Saften ble også brukt sammen med andre ingredienser mot ødem og nyresmerter.

I Senegal ble røttene brukt til å behandle leversykdommer.

I Singapore ble bladene brukt til å få håret til å vokse.

I Malaya ble bladene kokt og brukt mot tannmerter

I Java ble planten brukt mot ringorm, samtidig blir bladene også kokt og spist som mat.

I Sudan ble planten brukt mot skorpionstikk.

Hos Nath-folket i Assam ble planten brukt mot elefantsyke, leversykdommer, vatersott, gulsott og feber.

I Indonesia ble bladene brukt i forbindelse med behandling av kreft.

I Vietnam ble planten brukt som en blodstillende middel.

I den sørlige delen av Tamilnadu, India ble planten brukt som middel mot giften fra slangebitt.

På bakgrunn av informasjonene fra litteraturen kan man si at *Eclipta alba* Hassk. er en plante med et bredt tradisjonelt bruksområde over store deler av verden. Dette kan tyde på at *Eclipta alba* Hassk. er en viktig medisinsplante.

Studier

Eclipta alba Hassk.

Eclipta alba Hassk. ble i tre studie undersøkt for sin leverbeskyttende effekt mot skader induert av henholdsvis CCl₄, GaIN og phalloidin i den ene, CCl₄ i den ande og paracetamol i den tredje. Resultatene fra alle tre studiene viste at planten inneholdt denne egenskapen.

Videre er *Eclipta alba* Hassk. blitt undersøkt for smertestillende effekt. Både etanolekstraktet og kloroformekstraktet viste god smertestillende effekt.

Når det gjelder antibakteriell og antisopp effekt, har det blitt funnet to studier som tok opp temaet. Men resultatene har vært forskjellige, hvor den ene kom fram til at planten har disse effektene, mens den andre fant ingen effekt. Grunnen til det kan være konsentrasjonene av planteekstraktene som ble brukt i studiene. I studien hvor det ikke ble funnet effekt ble det brukt dosene 500 µg/ml og 1000 µg/ml, mens i den andre viste det effekt ved en dose på 25 mg/ml. Med andre ord så var det tydelig forskjell i konsentrasjonene som ble undersøkt.

Resultatene fra en studie hvor det ble undersøkt for antiplasmodial aktivitet av *Eclipta alba* Hassk. ble det funnet effekt. Men denne effekten var ikke sterk nok til å konkludere at planten har denne effekten.

I en annen studie ble *Eclipta alba* Hassk. undersøkt for sin antinociceptisk, antiinflammatorisk og bronkodilaterende effekter. Resultatene viste at planten inneholdt disse effektene.

Videre er planten blitt undersøkt og funnet til å ikke ha angstdempende, bevegelseshemmende og koordinasjonsnshemmende effekt. I samme studie ble det funnet at planten hadde en beskyttende effekt mot magesår som var induert av kulde og hemmet fysisk bevegelse. Studien viste også at planten har en beskyttende effekt mot leukocytose induert av melk.

Planten er også undersøkt og funnet til å ikke ha acetylkolinesterasehemmende effekt.

To studier som undersøkte antioksidant effekten hos *Eclipta alba* Hassk er blitt funnet. Resultatene fra disse studiene sier at planten inneholdt denne egenskapen.

Eclipta alba Hassk. har også blitt undersøkt for sin sårlegende effekt, noe som er bekreftet i studien. Dette ble vist gjennom en signifikant økning i hastigheten av sår sammentrekningen og ved forsterket epitelisering.

I en studie ble ekstraktene fra *Eclipta alba* Hassk. undersøkt for hårvekst stimulerende effekt. Resultatene viste at ekstraktene reduserte tiden til hårvekst initieringen og samtidig reduserte ekstraktene også tiden det tok til håret er ferdig vokst.

Eclipta prostrata

To studier ble funnet hvor *Eclipta prostrata* ble undersøkt for sin antibakteriell og antisopp effekt. I begge studiene ble det vist at planten inneholdt disse effektene.

I to andre studier av *Eclipta prostrata* ble planten undersøkt for sin lipidsenkende effekt. I begge studiene ble resultatene positive.

Eclipta prostrata har også blitt undersøkt for sin effekt på HSC celler. Resultatene viste at planten hadde en hemmende effekt på celledelingen til HSC celler.

Det er funnet en studie hvor *Eclipta prostrata* ble testet for sin hemmende effekt på HIV-1 Protease og HIV-1 Integrase. Resultatene viste at planten inneholdt denne egenskapen.

Videre er det to studier som undersøkte plantens antiproteolytisk og antiblødnings effekt mot giften fra Malayan pit viper gift. Resultatene fra disse studiene beviste at planten hadde disse egenskapene.

Til slutt er det tre studier som undersøkte *Eclipta prostratas* evne til å motvirke effektene av giften fra klapperslange. Resultatene fra alle studiene var positive.

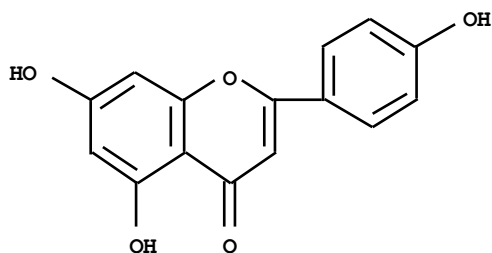
Ut ifra studiene som er funnet har en del av indikasjonene i tradisjonell bruken fått en vitenskapelig bekreftelse. Bruk av planten ved blant annet leversykdommer, astma, bruk som antiseptisk middel, bruk som middel mot kutt og sår og middel mot sopp (ringorm) er bekreftet. Videre er bruk av planten ved slangebitt, kreft (antioksidant effekt), ødem, bruk som smertestillende og bruk som hårvekst stimulerende middel bekreftet. Men selv om disse indikasjonene har blitt undersøkt er det fremdeles nødvendig med flere vitenskapelige studier. Blant annet ved bruken av planten i forbindelse med kreft behandling hvor dette kan bidra til behandling av en livstruende sykdom.

Bruk av planten til å behandle hudsykdommer kan også bekreftes. Grunnen til det er at det er et faktum at mange hudsykdommer skyldes bakterier og sopp. [44] Og ved å ha funnet studier som viser at planten har denne effekten kan man konkludere med at tradisjonell bruken har en vitenskapelig støtte. Videre kan denne indikasjonen også bekreftes med studier som viste at planten har en antiinflammatorisk og sårhelende effekt. Grunnen til det er at inflammasjon og sår kan være tilstander som man finner ved hudsykdommer.

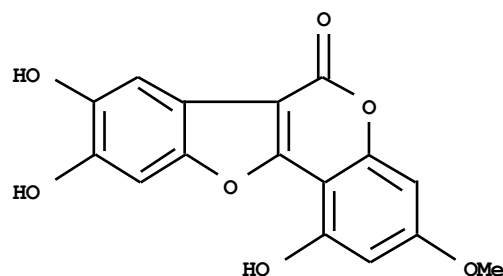
Når det gjelder de andre indikasjonene i tradisjonell bruken av planten, må flere studier gjennomføres før de kan få en vitenskapelig bekreftelse.

4) Kjemiske strukturer

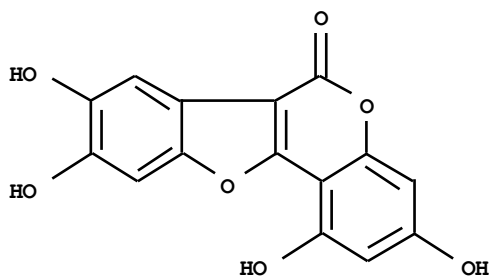
1: Apigenin



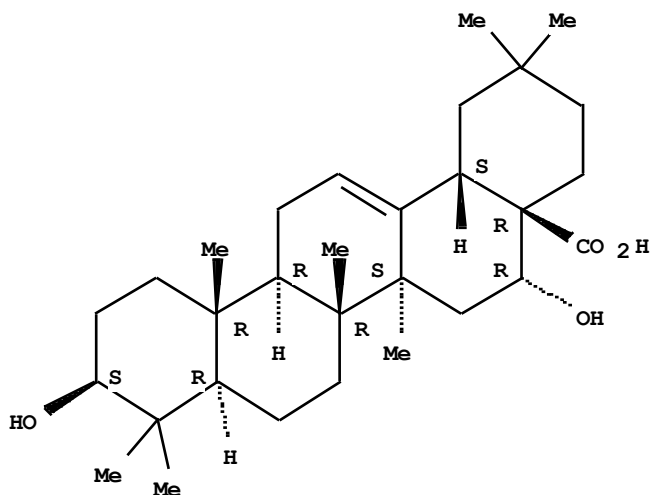
2: Wedelolakton



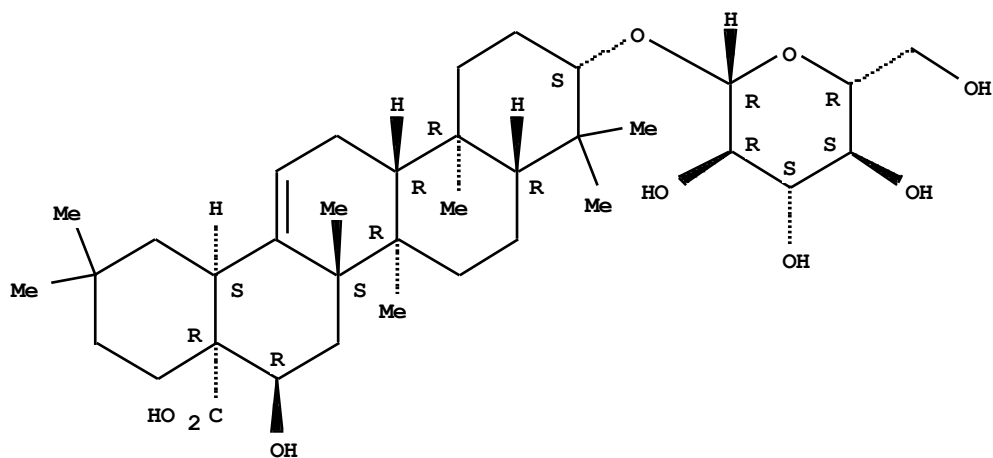
3: Demetylwedelolakton



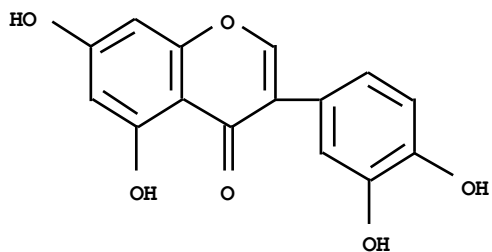
4: Echinocystic acid



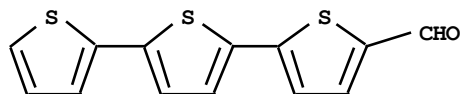
5: Eclalbasaponin II



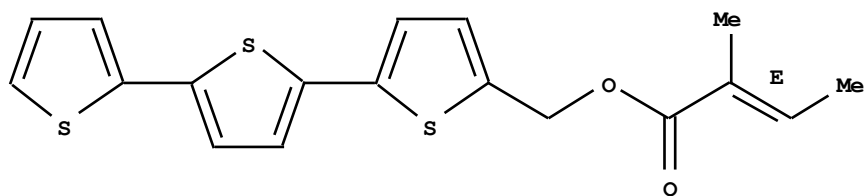
6: Orobol



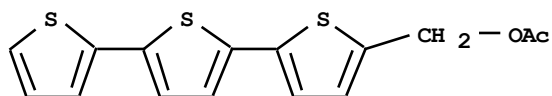
7: Ecliptal



8: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl tiglate



9: 5-hydroxymethyl-(2,2':5',2'')-terthienyl acetate



Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Ukjent: *Tropicos*. URL: <http://www.tropicos.org/Name/2702404> 19.04.09
3. Rai, M. B.: *Medicinal Plants of Tehrathum District, Eastern Nepal*. Our Nature: An International Biological Journal, 2003. **1**(1), 42-48.
4. Yan, X., Zhou, J., and Xie, G.: *Traditional Chinese Medicine - Molecular Structures, Natural Sources, and Applications*. Ashgate Publishing Limited, Hampshire 1999, s. 770 & 899.
5. Chopra, R. N., Nayar, S. L., and Chopra, I. C.: *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific & Industrial Research Publication, New Delhi, 1956, s. 104.
6. Burkill, H. M.: *The useful plants of West tropical Africa*. bind 1, Royal Botanical Gardens Kew, 1985, 1985, s. 466-467.
7. El-Kamali, H. H. and El-Khalifa, K. F.: *Folk medicinal plants of riverside forests of the Southern Blue Nile district, Sudan*. Fitoterapia, 1999. **70**(5), 493-497.
8. Rai, M. B.: *Medicinal Plants of Tehrathum District, Eastern Nepal*. Our Nature: An International Biological Journal, 2006. **1**(1), 42.
9. Burkill, I. H., M.A., and F.L.S.: *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. bind 1, Ministry of Agriculture and Co-Operatives, Kuala Lumpur 1966, s. 903-904.
10. Sikdar, M. and Dutta, U.: *Traditional Phytotherapy among the Nath People of Assam*. Studies on Ethno-Medicine, 2008. **2**(1), 39-45.
11. Graham, J. G., Quinn, M. L., Fabricant, D. S., and Farnsworth, N. R.: *Plants used against cancer - an extension of the work of Jonathan Hartwell*. Journal of Ethnopharmacology, 2000. **73**(3), 347-377.
12. NguyễnXuân, D. and kDôTâtLi: *Selection of traditional medicines for study*. Journal of Ethnopharmacology, 1991. **32**(1-3), 57-70.
13. Samy, R. P., Thwin, M. M., Gopalakrishnakone, P., and Ignacimuthu, S.: *Ethnobotanical survey of folk plants for the treatment of snakebites in Southern part of Tamilnadu, India*. Journal of Ethnopharmacology, 2008. **115**(2), 302-312.
14. Wagner, H., Geyer, B., Kiso, Y., Hikino, H., and Rao, G. S.: *Coumestans as the Main Active Principles of the Liver Drugs Eclipta alba and Wedelia calendulacea*. Planta Medica, 1986. **52**(5), 370-4.
15. Murali, B., Amit, A., Anand, M. S., and Samiulla, D. S.: *Estimation of wedelolactone and demethylwedelolactone in Eclipta alba Hassk. by improved chromatographic analysis*. Journal of Natural Remedies, 2002. **2**(1), 99-101.
16. Yahara, S., Ding, N., Nohara, T., Masuda, K., and Ageta, H.: *Taraxastane glycosides from Eclipta alba*. Phytochemistry, 1997. **44**(1), 131-135.
17. Sarg, T. M., Abdel Salam, N. A., El-Domiaty, M., and Khafagy, S. M.: *The steroid, triterpenoid and flavonoid constituents of Eclipta alba (L.) Hassk. (Compositae) grown in Egypt*. Scientia Pharmaceutica, 1981. **49**(3), 262-4.

18. Lee, M. K., Ha, N. R., Yang, H., Sung, S. H., Kim, G. H., and Kim, Y. C.: *Antiproliferative activity of triterpenoids from Eclipta prostrata on hepatic stellate cells*. Phytomedicine, 2008. **15**(9), 775-780.
19. Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Cheenpracha, S., and Karalai, C.: *HIV-1 protease and HIV-1 integrase inhibitory substances from Eclipta prostrata*. Phytotherapy Research, 2007. **21**(11), 1092-1095.
20. Singh, P. and Bhargava, S.: *A dithienylacetylene ester from Eclipta erecta*. Phytochemistry, 1992. **31**(8), 2883-4.
21. Singh, P., Sharma, A. K., Joshi, K. C., and Bohlmann, F.: *A further dithienylacetylene from Eclipta erecta*. Phytochemistry, 1985. **24**(3), 615-16.
22. Saxena, A. K., Singh, B., and Anand, K. K.: *Hepatoprotective effects of Eclipta alba on subcellular levels in rats*. Journal of Ethnopharmacology, 1993. **40**(3), 155-161.
23. Nahid Tabassum, S. S. A.: *Hepatoprotective activity of Eclipta alba Hassk. against paracetamol induced hepatocellular damage in mice*. JK-Practitioner, 2004. **Vol 11**, 278-280.
24. Sawant, M., Isaac, J. C., and Narayanan, S.: *Analgesic Studies on Total Alkaloids and Alcohol Extracts of Eclipta alba (Linn.) Hassk*. Phytotherapy Research, 2004. **18**, 111-113.
25. Valsaraj, R., Pushpangadan, P., Smitt, U. W., Adsersen, A., and Nyman, U.: *Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India*. Journal of Ethnopharmacology, 1997. **58**(2), 75-83.
26. Kumar, V. P., Chauhan, N. S., Padh, H., and Rajani, M.: *Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants*. Journal of Ethnopharmacology, 2006. **107**(2), 182-188.
27. Simonsen, H. T., Nordskjold, J. B., Smitt, U. W., Nyman, U., Palpu, P., Joshi, P., and Varughese, G.: *In vitro screening of Indian medicinal plants for antiplasmodial activity*. Journal of Ethnopharmacology, 2001. **74**(2), 195-204.
28. Leal, L. K. A. M., Ferreira, A. A. G., Bezerra, G. A., Matos, F. J. A., and Viana, G. S. B.: *Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study*. Journal of Ethnopharmacology, 2000. **70**(2), 151-159.
29. Thakur, V. D. and Mengi, S. A.: *Neuropharmacological profile of Eclipta alba (Linn.) Hassk*. Journal of Ethnopharmacology, 2005. **102**(1), 23-31.
30. Vinutha, B., Prashanth, D., Salma, K., Sreeja, S. L., Pratiti, D., Padmaja, R., Radhika, S., Amit, A., Venkateshwarlu, K., and Deepak, M.: *Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity*. Journal of Ethnopharmacology, 2007. **109**(2), 359-363.
31. Anuradha S. Majumdar*, M. N. S., Norma R. Andrades and and Kamble, R. Y.: *PHCOG MAG.: Research Article, Preliminary studies on the antioxidant activity of Tribulus terrestris and Eclipta alba*. Pharmacognosy Magazine, 2008. **4**, 102-106.
32. Surveswaran, S., Cai, Y.-Z., Corke, H., and Sun, M.: *Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants*. Food Chemistry, 2007. **102**(3), 938-953.
33. Shalini Sharma 1*, M. S. S.: *Research Article, Wound healing activity of ethanolic extract of leaves of Eclipta alba*. Pharmacognosy Magazine, 2008. **4**, 108-111.

34. Roy, R. K., Thakur, M., and Dixit, V. K.: *Hair growth promoting activity of Eclipta alba in male albino rats*. Archives of dermatological research, 2008. **300**(7), 357-364.
35. Wiart, C., Mogana, S., Khalifah, S., Mahan, M., Ismail, S., Buckle, M., Narayana, A. K., and Sulaiman, M.: *Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia*. Fitoterapia, 2004. **75**(1), 68-73.
36. Gopiesh Khanna, V. and Kannabiran, K.: *Antimicrobial activity of saponin fractions of the leaves of Gymnema sylvestre and Eclipta prostrata*. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2008. **24**(11), 2737-2740.
37. Kumari, C. S., Govindasamy, S., and Sukumar, E.: *Lipid lowering activity of Eclipta prostrata in experimental hyperlipidemia*. Journal of Ethnopharmacology, 2006. **105**(3), 332-335.
38. Kim, D.-I., Lee, S.-H., Choi, J.-H., Lillehoj, H. S., Yu, M.-H., and Lee, G.-S.: *The butanol fraction of Eclipta prostrata (Linn) effectively reduces serum lipid levels and improves antioxidant activities in CD rats*. Nutrition Research (New York, NY, United States), 2008. **28**(8), 550-554.
39. Pithayanukul, P., Lapett, B., Bavovada, R., Pakmanee, N., and Suttisri, R.: *Inhibition of Proteolytic and Hemorrhagic Activities by Ethyl Acetate Extract of Eclipta prostrata Against Malayan Pit Viper Venom*. Pharmaceutical Biology (New York, NY, United States), 2007. **45**(4), 282-288.
40. Pithayanukul, P., Laovachirasuwan, S., Bavovada, R., Pakmanee, N., and Suttisri, R.: *Anti-venom potential of butanolic extract of Eclipta prostrata against Malayan pit viper venom*. Journal of ethnopharmacology, 2004. **90**(2-3), 347-352.
41. Mors, W. B., Do Nascimento, M. C., Parente, J. P., Da Silva, M. H., Melo, P. A., and Suarez-Kurtz, G.: *Neutralization of lethal and myotoxic activities of South American rattlesnake venom by extracts and constituents of the plant Eclipta prostrata (Asteraceae)*. Toxicon, 1989. **27**(9), 1003-1009.
42. Melo, P. A., do Nascimento, M. C., Mors, W. B., and Suarez-Kurtz, G.: *Inhibition of the myotoxic and hemorrhagic activities of crotalid venoms by Eclipta prostrata (Asteraceae) extracts and constituents*. Toxicon, 1994. **32**(5), 595-603.
43. Samy Ramar, P., Thwin Maung, M., Gopalakrishnakone, P., and Ignacimuthu, S.: *Ethnobotanical survey of folk plants for the treatment of snakebites in Southern part of Tamilnadu, India*. Journal of ethnopharmacology, 2008. **115**(2), 302-312.
44. Bjerke, J. R.: *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell 2007*. Fagbokforlaget AS, John Grieg AS, Bergen, 2007, s. 435-458.

Referanse til foto av planten

Ukjent: Medicinal and aromatic plants. URL:

http://www.ics.trieste.it/MAPs/MedicinalPlants_Plant.aspx?id=607 06.05.09

***Grewia microcos* L.**

***Grewia microcos* L.**

Familie: Tiliaceae. [1]

Botanisk navn: *Grewia microcos* Linn. [1]

Synonym: *Microcos paniculata* Linn. [2]

Burmesisk navn: Myat-ya, Mya-ya. [1]

Bengali: Asar og Patka (Bengali). [3]

Sri Lanka: Kohu Kirilla, Keliya. [3, 4]

Tamil: Kadambu, Visalam. [4]

Tulu: Abroni. [4]

Bombay: Ansale, Shiral. [4]

Kanarese: Abhhrangu, Biliyabhhrangu, Majjigesoppu. [4]

Malayalam: Kottakka. [4]

Aktiv del av planten: Hele planten. [1]

Tradisjonell bruk i Burma:

Planten ble brukt ved hudsykdommer og fordøyelsesproblemer. [1]

Tradisjonell bruk på Adaman øyene

Bladene til *Grewia microcos* Linn ble brukt av Andamanesere som sigar papir. [5]

Tradisjonell bruk på Bangladesh

Planten ble brukt mot fordøyelsesproblemer, eksem, tyfoidfeber, dysenteri, sår på munnen som skylles syfilis og kløe. [3, 4]

Fakta om planten:

Grewia microcos L. tilhører arten *Grewia*. Denne arten består av busker og mindre trær som finnes i de varmere delene av verden. Noen arter gir ved som er verdifulle for små objekter hvor ”styrke” er ønsket, dette innebærer for eksempel utstyr som årer, håndtak og håndtak på øks. Barken på planten blir også brukt til å lage tau, dette gjelder spesielt arter som befinner seg i nordvest India og Filippinene. Ingen av artene som blir brukt i disse landene vokser vilt i Malay halvøya. Tauverk fra *Grewia* bark har blitt kjent for å komme fra Malaysia, men hvilken art som ble brukt er fremdeles ukjent.

Bærene til de fleste artene er spiselige, derfor er det også vanlig at disse bærene blir spist.

Bladene av mange arter blir brukt til medisinske formål, hovedsaklig til å applisere på huden.

Noen av plantene ble også brukt som te for å behandle en del ting, en av dem er for å behandle abdominale sykdommer. Virkningsmekanismen for disse effektene er ikke klarlagt.

Noen arter har også blitt brukt som fiskegift. [5]

Grewia microcos L. er en stor busk eller et tre i medium størrelse. Blomstene er hvit-gule.

Planten finnes i Pakistan, India, Ceylon, Bangladesh, Burma, sørøst asia og Kina. [2]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

Grewia microcos L.

Ingen kjemiske studier har blitt funnet.

Microcos paniculata L.

Ingen kjemiske studier har blitt funnet.

2) Biologiske studier

Grewia microcos L.

Ingen biologiske studier har blitt funnet.

Microcos paniculata L.

2.1 Insecticidal piperidine alkaloid from *Microcos paniculata* stem bark [6]

Barken av stammen til *Microcos paniculata* L. ble testet for sin insektsdrepende effekt hos larvene av *Aedes aegypti*.

Framgangsmåte

Plantematerialet

Barken ble hentet fra Rajakadaluwa i Chilaw distrikt av Sri Lanka. Materialet ble identifisert av Dr. Magdon Jayasuriya fra National Herbarium, Royal Botanic Gardens og Peradeniya.

Tilbereding av planteekstraktet

Tørket plantematerialet på omtrent 3,75 kg ble trinnvis ekstrahert med CH₂Cl₂ og MeOH.

Plantematerialet ble ekstrahert to ganger i løsningsmidlene, hver gang 24 timer. Konsentrering av CH₂Cl₂ løsningen gav 31.0 g faststoff og MeOH løsningen gav 75.0 g faststoff.

Biologisk aktiv del av ekstraktet

N-metyl -6 β -(deca-1',3',5'-trienyl)-3 β -metoksy-2 β -metylpiperidine (1) er alkaloidet som har insektsdrepende effekt.

Alkaloidet ble identifisert ved at planteekstraktet ble kjørt gjennom gjentatte vakuum væske, flash og tynnslått kromatografi (vacuum liquid, flash and preparative thin layer chromatography), og fraksjonene etter hvert trinn ble undersøkt for mygg larve-drepende effekt.

Utførelse av undersøkelsen

Ekstraktene, fraksjonene og forbindelsene ble analysert for aktivitet mot andre instar larve fra *Aedes aegypti*.

Ekstraktene ble løst i enten vann eller aceton slik at konsentrasjonen ble 500 ppm. I tillegg ble polyethyleneglycol i isopropanol tilsatt løsningen. Til slutt ble vann tilsatt for å gi løsningen et volum på 200 ml. På samme måte ble fraksjonene og forbindelsene tilberedt slik at konsentrasjonene ble henholdsvis 50 ppm for fraksjonene og 20 ppm for rene forbindelser.

Ti larver ble overført til 25 ml av de forskjellige løsningene i hver sitt glassbeger. Undersøkelsen ble utført fire ganger ved hver konsentrasjon. Til kontroll ble blandingen av aceton eller vann og polyethyleneglycol brukt. Aktive ekstrakter, fraksjoner og forbindelser ble også testet i lavere konsentrasjoner ved hjelp av fortykningsserier.

Tall av døende eller døde larver ble registrert med en 24 timers mellomrom til alle larvene var døde. Larver som ikke viste "zig-zag" bevegelser når de ble undersøkt ble regnet som døende og larver som ikke viste bevegelser ved utsettelse for wolfram lampe på omtrent 60 W, ble regnet som døde.

Resultat

Ekstraktene fra både CH₂Cl₂ og MeOH viste giftige og veksthemmende effekter på test materialet. Døende larve som så ut til å til være død, gav av og til "zig-zag" bevegelser når de ble utsatt for en lyskilde. Larvene utviklet seg ikke videre og overlevelsestiden var avhengig av konsentrasjonen av ekstraktet i prøven. I prøvene med lav konsentrasjon av ekstraktet (< 20 ppm), holdt larvene seg i den døende tilstanden i fem eller seks dager før de døde. Kroppene til larvene ble mager, lange og gjennomsiktige, noe som tyder på at ekstraktet i lave konsentrasjoner har påvirkning på veksten og utviklingen av larvene.

3) Konklusjon og diskusjon

Grewia microcos L.

Grewia microcos L. ble tradisjonelt brukt i Burma ved hudsykdommer og fordøyelsesproblemer. I Bangladesh ble planten brukt mot fordøyelsesproblemer, eksem, tyfoidfeber, dysenteri, sår på munnen som skylls syfilis og kløe.

På Adaman øyene ble bladene brukt som sigar papir.

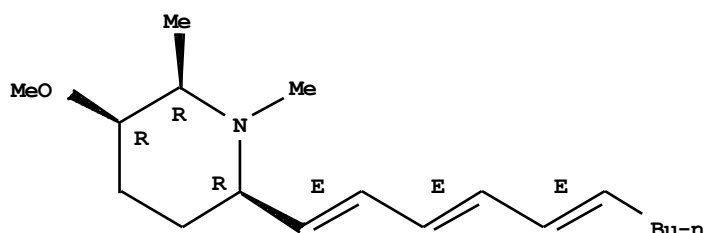
Microcos paniculata L.

Den eneste studien som ble funnet gikk ut på å teste plantens insektsdrepende effekt hos myggarten *Aedes aegypti*. Resultatet viste at planteekstraktet fra CH₂Cl₂ og MeOH inneholdt denne egenskapen.

Det har foreløpig ikke blitt gjort noen vitenskapelige studier som undersøker tradisjonell bruken av *Grewia microcos* L. Studier må gjennomføres før det er mulig å si noe om tradisjonell bruk av *Grewia microcos* L. har vitenskapelig støtte.

4) Kjemiske strukturer

1: N-Methy -6β-(deca-1',3',5'-trienyl)-3β-methoxy-2β-metylpiperidine



Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-185.
2. Ukjent: *Flora of Pakistan*.
URL:http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=5&taxon_id=242324023, 26.09.08
3. Ukjent: *Asia Pacific Medicinal Plant Database*.
URL:<http://219.93.41.233/wapi/mctweb.dll/getObject?MID=MEDICINALPLANT&ObjID=3390>, 26.09.08
4. R.Kirtikar, L.-C. K., Basu, M. B. D., and S., A. I. C.: *Indian Medicinal Plants*. bind 1, 2. opplag, Lalit Mohan Basu, India, 1935, s. 394-395.
5. Burkill, I. H., M.A., and F.L.S.: *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. bind 1, Ministry of Agriculture and Co-Operatives, Kuala Lumpur 1966, s. 1129-1131.
6. Bandara, K. A. N. P., Kumar, V., Jacobsson, U., and Molleyres, L.-P.: *Insecticidal piperidine alkaloid from Microcos paniculata stem bark*. Phytochemistry, 2000. **54**(1), 29-32.

Jasminum humile L.



***Jasminum humile* L.**

Familie: Oleaceae. [1]

Botanisk navn: *Jasminum humile* L. [1]

Burmesisk navn: Ukjent.

Synonym: *Jasminum inodorum* Jacq.; *Jasminum revolutum* Sims.; *Jasminum chrysanthemum* Roxb.; *Jasminum wallichianum* Lindl.; *Jasminum pubigerum* D. Don; *Jasminum bignoniaceum* Wall. [2, 3]

Sanskrit, Bombay State og Telugu: Hemapushpika.

Punjabi: Chamba.

Malayalam: Pita. [3]

Sanskrit: Basantee.

Hindi: Pitmalli.

Bengalsk: Swarnajuin.

Tamilsk: Semmalligai.

Engelsk: Yellow Jasmine. [2]

Japansk: Kisohei. [4]

Pakistansk (Gokand Valley): Zair Rambail-chambail. [5]

Aktiv del av planten: Roten, blomsten og barken. [1, 2]

Tradisjonell bruk i Burma

Ble brukt ved hud sykdommer (ringorm). [1]

Tradisjonell bruk i India

Blomstene: ble brukt som astringerende middel, hjertestyrkende middel og er nyttig ved tarmproblemer.

Barken: juicen fra kuttet bark ble brukt som et hodepinedempende middel, astringerende middel, kjølede middel, beroligende middel og som en gift. Barken ble brukt til å fjerne den helsefarligfylling ved fistel og sinus. Juicen var nyttig ved byll, brannskader, tann smerter og hudsykdommer.

Roten: nyttig ved ringorm (overflatisk soppinfeksjon i huden, f. eks lyskesopp, som oftest har en ringorm som gradvis øker i størrelse). [2]

Tradisjonell bruk i Pakistan

Ble dyrket som en dekorativ plante. Uttrekk fra roten ble brukt i behandling av ringormer. [5]
Blomsten ble brukt i parfyme, røttene ble brukt mot ormer og blomsteekstraktet ble brukt i behandling av øyeproblemer. [6]

Fakta om planten

Jasminum humile L. er en oppreist stiv busk. Blomstene har gule og er å finne i perioden april til juni. Fruktene kommer i september.

Planten er funnet i subtropisk Himalaya, fra Nepal til Kashmir og Sør India inkludert fjellene Nilgiris. [2]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

1.1 *The treatise on Indian medicinal plants* [2]

Kjemiske bestanddeler

Fra bladene til *Jasminum humile* L. er det blitt isolert α -Amyrin, betulin, friedelin, lupeol, betulinsyre, oleanolsyre, ursolisyre, β -sitosterol, 10-cinnamoyloxyoleosid-7-methylester(jasminosid) og en secoiridoid glukosid.

1.2 *A secoiridoid glucoside of Jasminum humile var. Revolutum* [4]

Et nytt secoiridoid glukosid, jasminosid, ble isolert fra *Jasminum humile* var. revolutum.

Framgangsmåte

Plantematerial

Jasminum humile var. revolutum ble samlet inn fra Higashiyama Botanic Garden, Nagoya i 1980.

Isolering av jasminosid fra *Jasminum humile* L. var. revolutum

Friske blader på omtrent 2.0 kg ble ekstrahert med varmt H₂O (31x3) og de kombinerte ekstraktene ble konsentrert i vakuum til 31. Etter vasking med Et₂O ble det vandige ekstraktet konsentrert i vakuum for å gi et bunnfall på omtrent 100g. Dette bunnfallet ble videre separert ved kolonne kromatografi på aktiv karbon som ble eluert trinnvis med H₂O (30 l) og MeOH (30 l). MeOH eluatet ble konsentrert i vakuum for å gi et viskøst bunnfall (29.0 g), som ble kromatografert på Si gel kolonne med CHCl₃-MeOH som elueringsmiddel med en økende MeOH innhold. Kombinerte fraksjoner eluert med CHCl₃-MeOH ble konsentrert i vakuum for å gi et krystallinsk bunnfall som ble rekrystallisert fra MeOH.

Resultat

Rekrystallisering med MeOH gav jasminosid. Jasminosid er fargeløst og har smeltepunkt mellom 116,5 -118 grader. Formelen til jasminosid er $C_{26}H_{30}O_{13} \times 3/2 H_2O$. Strukturen til jasminosid er 10-cinnamoyloxyoleosid-7-methylester.

1.3 Triterpenoids of *Jasminum* species [7]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn og identifisert av Indian Botanic Garden.

Kolonne kromatografi ble gjort på silika gel. TLC ble utført på silika gel G plate. Flekkene ble synlige ved å spraye på cerin sulfat i 70 % H_2SO_4 og ved oppvarming av platen til 110 grader i 10 minutter. Identifisering av forbindelsene skjedde gjennom sammenligning med kjente substanser.

Ekstraksjon

Lufttørkede blader ble pulverisert og ekstrahert grundig med alkohol. Alkoholekstraktet ble videre reekstrahert med eter. Bunnfallet som oppstod ved fjerning av eter ble forsåpet og opparbeidet for å gi nøytrale og sure fraksjoner. Disse fraksjonene ble videre kjørt gjennom kromatografi.

Resultat

Kromatografi av den nøytrale den gav fire fraksjoner (A-D).

Fraksjon	Forbindelse
A	Friedelin
B	Lupeol
C	β -sitosterol
D	Betulin

Kromatografi av den sure delen gav to fraksjoner (E og F).

Fraksjon	Forbindelse
E	Betulinsyre
E	Oleanolsyre
F	Ursolisyre

Bortsett fra disse forbindelsene ble også α -amyrin identifisert. Denne forbindelsen har blitt isolert tidligere av (Ross *et al.* 1982), derfor er den ikke tatt med i denne undersøkelsen.

1.4 Flavonoid Glycosides from the Leaves of *Jasminum humile* var. *revolutum* [8]

Framgangsmåte

Tørket blader fra planten ble først ekstrahert med n-heksan og så med metanol. Metanolekstraktet ble konsentrert i vakuum til alt er tørket. Tørket ekstrakt ble videre kjørt gjennom kolonne kromatografi på polyamide. Fraksjonen som er løselig i metanol ble videre separert av kolonne kromatografi med silika gel som stasjonærfasen. Ved hjelp av CHCl_3 – MeOH – H_2O – AcOH (60:40:8:0.3) som mobilfase ble det dannet en Mg – HCl positiv fraksjon. Denne fraksjonen ble senere rensert med HPLC på ODS (C-18) ved bruk av CH_3CN – 1 % AcOH (1:1).

Resultat

Etter behandling med HPLC ble det oppdaget tre flavonol glykosider. Disse er rutin, quercetin-3-[6-O-glukosyl-glukosid] og kaempferol-3-[6-O-glukosyl-glukosid]. Disse ble identifisert ved hjelp av spektralanalyser og kjemiske beviser.

1) Biologiske studier

Ingen biologiske studier har blitt funnet.

3) Konklusjon og diskusjon

Jasminum humile L. ble tradisjonell brukt i Burma i forbindelse med hudsykdommer (ringorm).

I India ble både blomstene, barken og røttene brukt. Blomstene ble brukt som astringerende middel, hjertestyrkende middel og middel mot tarmproblemer. Barken ble brukt ved hodepine, som astringerende middel, kjølede middel og beroligende middel. Juicen fra barken ble også blant annet brukt ved tannmerter og hudsykdommer. Røttene fra planten ble funnet nyttig ved ringorm.

I Pakistan ble planten dyrket som en dekorativ plante. I tillegg ble blomstene brukt i parfyme, blomsteekstraktet ble brukt ved øyeproblemer og røttene ble brukt i forbindelse med behandling av ringormer.

Det har foreløpig ikke blitt funnet noen biologiske studier som kan bekrefte eller avkrefte tradisjonell bruken. Studier må gjennomføres før tradisjonell bruken kan få en eventuelt vitenskapelig bekreftelse på at planten faktisk har disse effektene.

Søk etter vitenskapelige artikler av synonymer til *Jasminum humile* L. gav ingen treff.

4) Kjemiske strukturer

Foreløpig ikke tilgjengelig. .

Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. 25, 155-158.
2. Chatterjee, P. M. A. and Pakrashi, D. S. C.: *The Treatise On Indian Medicinal Plants*. bind 4, Publications & Information Directorate, New Delhi 1995, s. 75-76.
3. Chopra, R. N., Nayar, S. L., and Chopra, I. C.: *Glossary Of Indian Medicinal Plants*. Council of scientific & industrial Research, New Delhi 1956, s. 144.
4. Inoue, K., Tanahashi, T., Inouye, H., Murai, F., and Tagawa, M.: *Studies on monoterpene glucosides and related natural products. Part 44. A secoiridoid glucoside of Jasminum humile var. revolutum*. Phytochemistry (Elsevier), 1982. 21(2), 359-61.
5. Khan, A., Gilani, S. S., Hussain, F., and Durrani, M. J.: *Ethnobotany of Gokand Valley, District Buner, Pakistan*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2003. 6(4), 363-369.
6. Dar, M.: *Ethnobotanical Uses of Plants of Lawat District Muzaffarabad, Azad Jammu and Kashmir*. Asian Journal of Plant Sciences, 2003. 2(9), 680-682.
7. Dan, S. and Dan, S. S.: *Triterpenoids of Jasminum species*. Indian Drugs, 1985. 22(12), 625-7.
8. Okada, Y. and Okuyama, T.: *Flavonoid glycosides from the leaves of Jasminum humile var. revolutum*. Natural Medicines, 1994. 48(1), 97.

Referanse til foto av planten

Ukjent: Infojardin. URL: <http://fichas.infojardin.com/trepadoras/jasminum-humile-jazmin-italiano-jazmin-de-italia.htm> 06.05.09

Plumbago indica L.



***Plumbago indica* L.**

Familie: Plumbaginaceae.

Botanisk navn: *Plumbago indica* L. [1]

Synonym: *Plumbago rosea* L. [2]

Burmesisk navn: Ukjent.

Hindi: Chitra, lal-chita, rakta-chitra.

Bengalsk: Lal-chitra.

Gujarati: Lal-chitrak, rato-chatro.

Telugu: Errachitramulam.

Malayalam: Chivappukoduveli.

Oriya: Rongachitamulo, lal-chita.

Kashmir: Shitray, shitrang.

Assam: Agechhit.

Tamilsk: Cenkodiveli, cithiramulam [3], Akini [4]

Engelsk: Indian Leadwort [5], Rose-colored Leadwort. [2]

Kinesisk: Zi xue hua. [5]

Sanskrit: Raktachitrakta. [2]

Java: Cheraka merah, Sitaka.

Siamesisk: Chet tamun plôngdêng. [6]

Chakma: Rangaja aguna- teda. [7]

Aktiv del av planten: Roten [2], stengelen, bladet og blomsten. [5]

Tradisjonell bruk i Burma

Ukjent

Tradisjonell bruk i India

Roten ble brukt som abortmiddel, etsende middel, appetittvekkende middel, magestimulerende middel, middel til å øke spyttsekresjonen, blæretrekkende middel og middel mot leukoderma. Knust rot sammen med litt mild olje ble brukt til å behandle revmatisme, lammelse, betent og hoven lymfeknute og hudsykdommer.

I store doser ble planten brukt i behandling av anoreksi, dyspepsi, oppblåsthet og andre fordøyelsesproblemer. Planten har også blitt brukt mot hemoroider, spedalskhet og sekundær syfilis. [2]

Melkeaktig juice fra røttene ble brukt mot skabb. [8]

Tradisjonell bruk i Kina

Planten ble brukt til å behandle menstruasjons blokk, underlivssmerter under menstruasjon og ømhet ved begynnende sårdannelse. [5]

Tradisjonell bruk i Malaya

Det har blitt sagt at regelmessig tygging av roten og ”arecanut” gav aborteffekt. [3]

Roten ble også sammen med andre ingredienser blant annet medisinsk ingefær, brukt til å behandle hoste. Videre er planten (roten eller bladet) enten helt rå eller blandet med olje brukt til å behandle revmatisme, hevelse i kjertelceller og spedalskhet. [6]

Tradisjonell bruk på Java

Roten er brukt i veterinærmedisin for å fjerne ormer hos hester. [3] Tynne skiver av roten ble også brukt til å behandle ”beriberi” (en nervesystem lidelse) og hodepine. [6]

Tradisjonell bruk hos Chakma stammen i Bangladesh

Roten til *Plumbago indica* L. ble brukt til å behandle magesmerte. [7]

Fakta om planten

Plumbago indica L. (synonym *Plumbago rosea*) er en flerårig busk med spredte grener. Bladene er hovedsakelige eggformet eller ellipseformet og blomstene er røde.

Plumbago indica er en vakker ornament plante, som er hyppig dyrket i hager på grunn av plantens skinnende røde blomster. Planten er bredt distribuert i tropiske områder. Planten vokser overalt i India og det er rapportert at planten er vill eller naturlig i Sikkim og Khasi områdene. [3]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

Plumbago indica L.

1.1 6-Hydroxyplumbagin, a naphthoquinone from *Plumbago indica* [9]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plumbago indica L. ble samlet inn fra Hoogly og Jampai områder i desember 1988.

Ekstraksjon og isolering

Tørket og pulveriserte planterdeler (deler som finnes over bakken) ble ekstrahert med varm petrol. Deretter ble løsningsmiddelet fjernet ved redusert trykk. Dette gav en halv fast mørkebrun residuum. Videre ble residuet kjørt gjennom kolonne kromatografi, og det ble brukt petrol med økende andel av EtOAc som elueringsmidler.

Resultat

Fra petrolekstraktet av *Plumbago indica* L. ble det isolert 6-hydroksyplumbagin (eller 5,6-dihydroksy-2-metyl-1,4-naphthoquinone), plumbagin (hoved konstituent) (1), sitosterol, stigmasterol og campesterol.

1.2 A dihydroflavonol from *Plumbago indica* [10]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plumbago indica L. ble samlet inn fra Hoogly i desember 1991.

Ekstraksjon og isolering

Pulver av plantedeler (deler over bakken) hvor fett er blitt fjernet, ble ekstrahert med teknisk MeOH. Videre ble løsningsmiddelet fjernet ved hjelp av redusert trykk. Residuet som ble dannet var mørkebrun. Deretter ble ekstraktet ekstrahert med EtOAc, og denne fraksjonen ble konsentrert og kjørt gjennom kolonne kromatografi som brukte C₆H₆ med en økende andel av EtOAc som elueringsmidler.

Resultat

I denne studien ble det isolert en dihydroflavonol:

Navn: Plumbaginol

Struktur: 3,5,3'-trihydroksy-6,7-metylenedioksy-8,5'-dimetoksy-2R:3R-flavanone

1.3 Chemical constituents of *Plumbago indica* roots [11]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra Hoogly i Vest Bengal, Jampai og Tripura.

Ekstraksjon og isolering

Tørket og pulverisert plantematerialet ble trinnvis ekstrahert med varm petrol og varm EtOAc i et Soxhlet apparat. Ekstraktene ble videre behandlet med forskjellige kjemikalier og de forskjellige forbindelsene ble separert ved hjelp av kolonne kromatografi.

Resultat

Det ble isolert en naphthoquinone og to derivater.

Navn: PI-31

Struktur: 3-*O*-3'-bidroserone

Navn: PI-32

Struktur: 2,3-epoxyplumbagin

Navn: PI-33 (Plumbagic acid)

Struktur: 3*S*-methyl-4(2',3'-dihydroxyphenyl)-4-oxobutanoic acid

1.4 Chemical Constituents of *Plumbago indica* roots and reactions of plumbagin: Part II [12]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantermaterialet ble samlet inn fra Hoogly i desember 1994.

Ekstraksjon og isolering

Lufttørket pulver av røttene til *Plumbago indica* ble ekstrahert trinnvis med petrol og EtOAc i et Soxhlet apparat. Løsningsmidlene i ekstraktene ble fjernet ved hjelp av redusert trykk. Videre ble ekstraktet separert i en fenol- og nøytral del. Denne prosessen ble utført ved hjelp av 5 % NaOH, 2M HCl og Et₂O. Deretter ble forbindelsene i ekstraktene separert ved hjelp av kolonne kromatografi.

Resultat

Kolonne kromatografi over silika gel av petrolekstrakt		Kolonne kromatografi med Sephadex LH-20 + silika gel av etylacetatekstrakt	
Fenolisk del	Nøytral del	Fenolisk del	Nøytral del
Plumbagin (5-hydroksy-2-metyl- α -naphthoquinone)	Myricyl palmitat	Plumbago acid lactone (quinone derivat)	
Palmitinsyre		Ayanin (flavonol)	
		Azaleatin (flavonol)	

Plumbago rosea* L.*1.5 A Simple Method for Isolation of Plumbagin from Roots of *Plumbago rosea* [13]****Framgangsmåte****Plantematerial**

Plantematerialet ble skaffet fra Kolkata i øst India i september måneden.

Ekstraksjon og isolering

Pulver av roten (100 g) ble behandlet i kald maserasjon (oppbløting) i tre dager ved hjelp av aceton (500 ml x 5). Acetonekstraktet ble konsentrert under redusert trykk til en volum på 70 ml. Plumbagin som er uløselig i vann, ble felt ut ved tilsetning av 450 ml av destillert vann. Bunnfallet ble videre filtrert under vakuum, vasket, og blandet med kloroform. Konsentrering av kloroformekstraktet gav et oljeaktig og brunaktig residuum. Residuet ble blandet med 7 ml kloroform og plassert i en glass kolonne som brukte silika gel som stasjonær fasen. Som mobilfasen ble det brukt n-heksan med økende mengde av etylacetat. Fraksjonen som ble eluert med n-heksan: etylacetat (92:8) viste kun en flekk på TLC. Etter fordamping gav det en fin krystallaktig oransje stoff.

Resultat

Stoffet som ble dannet er plumbagin (5-hydroksy-metyl-1,4-naphthoquinone).

1.6 Chemical examination of the root-bark of *Plumbago rosea* Linn. [14]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet som ble brukt bestod av en mørkebrun bark fra roten som ble skaffet fra det lokale markedet.

Ekstraksjon med løsningsmidler

Pulver fra plantematerialet ble ekstrahert i et Soxhlet apparat trinnvis med forskjellige løsningsmidler når følgende prosentandeler av ekstrakt tørket ved 100 grader ble skaffet: Petroleter (0,66), etyleter (0,47), kloroform (0,40), etylacetat (1,43), aceton (4,30) og etylakolhol (11,23)

Resultat

Resultatene fra undersøkelsen viste at barken av roten til *Plumbago rosea* L. inneholdt plumbagin, sitosterol, en fettaktig alkohol (sannsynlig arachidyl alkohol), oljesyre, linolsyre og sannsynlig lignoserinsyre, en fytosterolin (sitosterol-glukoside), et mettet hydrokarbon, glukose og en stor andel av et brunt, formløst og inert material.

1.7 Naphthoquinones from the roots of *Plumbago rosea* Linn. [15]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra Hoogly, Vest Bengal, Jampai og Tripura.

Ekstraksjon og separasjon av fenolisk fraksjon

Tørket og pulveriserte røtter av *Plumbago rosea* L. ble trinnvis ekstrahert med varm petrol og varm EtOAc i et Soxhlet apparat. Løsningsmiddelet ble fjernet ved hjelp av redusert trykk, ekstraktet ble videre separert i en fenolisk og en nøytral fraksjon. Dette ble gjort ved hjelp av 5 % NaOH, 2M HCl og eter. Fenolisk fraksjonen ble deretter kromatografert over silika gel ved hjelp av kolonne kromatografi og eluert med løsningsmidler (petrol, petrol-benzen, benzen og benzen-kloroform) med økende polaritet.

Resultat

Fra *Plumbago rosea* L. ble det isolert en ny binaphthoquinone, roseanone. Samtidig ble det også isolert andre kjente naphthoquinone, droserone, elliptinone og zeylanone.

2) Biologiske studier

Plumbago indica L.

2.1 Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India [16]

I denne studien var *Plumbago indica* L. blant 78 planter som ble testet for sin antibakterielle effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn i periodene april-mai 1993, mars-april 1994 og mai 1995 fra forskjellige områder av det fuktige, tropiske skogen av Western Ghats regionen av Kerala, India.

Forberedelse av ekstrakten

Pulveriserte plantedeler (bladene) ble ekstrahert med 100 ml 80 % etanol i en time på en ultrasonisk bad. Ekstraktet ble deretter filtrert, og filtratet ble fordampet i vakuum ved 45 grader og frysetørket til fullstendig tørrhet.

Testorganismer

Organismer som ble brukt var *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* og *Aspergillus niger*.

Antibakteriell undersøkelse

Metoden som ble brukt var agar fortynningsmetoden som var beskrevet av (Vanden Berghe og Vlietinck 1991). Streptomycin 0,5 mg/ml ble brukt som positiv kontroll, og DMSO-Tris buffer 1:4 ble brukt som negativ kontroll. Tallene 1, 2, 3, 4 ble gitt for null vekst ved 25, 12.5, 6.25 og 1.56 mg ekstrakt/ml. 0 ble gitt for ingen hemmede effekt.

Antisopp undersøkelse

Metoden som ble brukt var agar-brønn diffusjonsmetoden, beskrevet av (Verpoorte *et al.* 1982). Amphotericin B 0,25 mg/ml ble brukt som positiv kontroll, og DMSO-Tris buffer 1:9 ble brukt som negativ kontroll.

Resultat

Resultatene viste at *Plumbago indica* L. var en av fem planter som viste en hemmende effekt mot alle seks testorganismene. Ekstrakt av bladene til *Plumbago indica* L. viste effekt ved 12.5 og 6.25 mg ekstrakt/ml.

2.2 Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico [17]

Plumbago indica L. var en av 172 plantearter som ble undersøkt for sin antibakterielle effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn i perioden mellom mars 1983 og mars 1985. *Plumbago indica* L. ble hentet fra nordvestlige og vestlige områder av Puerto Rico, spesielt områdene Isabela, Aguadilla, Quebradillas, San Germán og Sámana Grande.

Ekstraksjon

Plantematerialet (vanligvis blader men av og til også frukter) ble ovnstørket i en skyllebolle ved 65 grader i to dager, deretter ble materialet knust for hånd og lagret i plastikk poser. 50 gram av plantematerialet ble ekstrahert med 100 ml metanol i en elektrisk mikser i 15 minutter. Suspensjonen som ble til ble filtrert to ganger, først med tøy (50 % bomull/ 50 % polyester) og så med filter papir (Whatman No. 2). Filtratet som ble dannet ble konsentrert til tørke i en Rotovapor (en roterende fordampings apparat). Før undersøkelsen ble konsentratet løst opp i 50 ml av dobbel destillert vann til en slutt konsentrasjon på 1000 mg/ml.

Mikroorganismer

Escherichia coli, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*, *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Arthrobacter globiformis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Micrococcus roseus*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium rodochrus* og *Mycobacterium smegmatis*.

Antibakteriell test

Antibakteriell aktivitet ble undersøkt ved å bruke en modifisert versjon av disk diffusjonsmetoden, som er opprinnelig beskrevet av (Bauer *et al.* 1966). Som positive kontroller ble det brukt kloramfenikol, streptomycin, tetracyclin, erytromycin, neomycin, novobiocin, kanamycin og penicillin G. Som negativ kontroll ble det brukt løsningsmiddel uten planteekstrakt.

Resultat

Plumbago indica L. var blant de 158 plantene som ikke viste noe antibakterielt effekt mot *Escherichia coli* og *Staphylococcus aureus*.

2.3 Inhibitory activities of Thai medicinal plants against herpes simplex type 1, poliovirus type 1, and measles virus [18]

Plumbago indica L. var en av 49 tradisjonelle thailandske medisinske planter som ble undersøkt for antiviral effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra Songkhla i Thailand.

Ekstraksjon

5 g av tørket plantematerial (blader og røtter) ble ekstrahert to ganger med enten 100 ml vann eller etanol under reflux i 3 timer. Løsningsmiddelet ble deretter fjernet under redusert trykk. En prosent DMSO løsning ble brukt som kontroll.

Koloni reduksjons analyse

Før starten av denne analysen ble tørket planteekstrakt oppløst i dimetyl sulfoksid (DMSO) for å gi en konsentrasjon på 10 mg/ml. I denne studien ble ekstraktene undersøkt ved 50 µg/ml og 100 µg/ml.

Kulturer av Vero celler i 60 mm skåler ble infisert med 100 koloni dannende enheter (PFU – plaque forming unit) av HSV-1 (Herpes simplex virus), poliovirus, eller meslinger virus i 1 time ved romtemperatur. Deretter ble cellene blandet med 5 ml av nærings medium med eller uten planteekstraktene. Celle kulturrene infisert med HSV-1, poliovirus, og meslinger virus ble videre inkubert i 2, 3 og 5 dager ved 37 grader. Deretter ble cellene behandlet med en 5 % formaldehyd løsning og farget med 0,03 % metylen blå.

Antall av koloni ble telt under en binokulær mikroskop. IC₅₀ verdier ble bestemt ut fra en kurve som beskrev sammenhengen mellom antall koloni og konsentrasjonen av prøvene.

I tillegg ble også cytotoxisiteten til ekstraktene bestemt. Det ble bestemt ved hjelp av synlig sammenligning mellom kontrollen og ekstraktene.

Resultat

I denne studien ble ekstraktene som reduserte koloni dannelsen av hvert virus til mindre enn 50 %, definert til å ha antiviral effekt. Resultatene viste at etanolekstrakt av bladene fra *Plumbago indica* L. viste merkbar hemmende effekt mot kun HSV-1. Det ble også påvist at ekstraktet hadde svak cytotoxisitets effekt.

2.4 Immunosuppressive effect of medicinal plants of Kolli hills on mitogen-stimulated proliferation of the human peripheral blood mononuclear cells on vitro [19]

Plumbago indica L. var blant plantene som ble undersøkt for sin immunsuppressive effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra Kolli fjellet i India.

Forberedelse av ekstraktet

Fersk plantematerial ble vasket under rennende vann og tørket i skygge. Deretter ble plantematerialet pulverisert og ekstrahert i et Soxhlet apparat med metanol, n-heksan, etylacetat, kloroform, etanol 96 %, benzen, aceton og vann. Organiske løsningsmidler ble fjernet ved redusert trykk, mens vann ble fjernet ved frysetørking.

Lymfocytt proliferasjon analyse av ^3H thymidin opptak

Metoden som ble brukt er beskrevet av (Lie-Chwen *et al.* 1999). I denne analysen ble det brukt Vero celler. Celler suspensjonen ble fordelt på en plate med 96 brønner. Denne platen ble videre inkubert i 24 timer. Etter inkubasjonen ble 100 µl av ekstrakt ved forskjellige konsentrasjoner (50, 100, 150 µg/ml) tilsatt til brønnene. Celler kulturene ble stimulert med 20 µg/ml av PHA. Kontrollene bestod av PBMC (peripheral blood mononuclear cells) med PHA (positiv kontroll), PBMC med RPMI (negativ kontroll) og en prøve med metanol (negativ kontroll). Prøvene ble videre inkubert i 5 % CO₂ luft i fuktig atmosfære ved 37 grader i 72 timer. Lymfocytt proliferasjon ble estimert ved hjelp av tilsetning av ^3H -thymidin. Etter 16 timer med inkubasjon ble andel prosent inhibisjon beregnet.

Resultat

Studien viste at det var kun metanolekstraktet av planten *Plumbago indica* L., som viste en signifikant evne til å senke mitogen induisert lymfocytt proliferasjon ved en konsentrasjon på 100 µg/ml. Dette indikerer at ekstraktet har en doseavhengig effekt som påvirker T-celler proliferasjonen.

***Plumbago rosea* L.**

2.5 Antifertility screening of plants. Part III, Effect of six indigenous plants on early pregnancy in albino rats [20]

Plumbago rosea L. ble i denne studien testet for sitt antiimplantasjon aktivitet.

Framgangsmåte

Plantematerial

Ikke nevnt.

Ekstraksjon

Plantematerialet ble lufttørket og pulverisert før den ble ekstrahert i et Soxhlet apparat med petroleter, 95 % alkohol og destillert vann. Ekstraktet ble fordampet til tørrhet på et vannbad.

Antifertilitets analyse

Metoden som ble brukt er beskrevet av (Khanna and Chaudhury, 1986). Den eneste endringen er at ekstraktet ble administrert fra en til sju dager istedenfor en til fire dager. Antall rotter som ble brukt var enten fem eller ti, og dosen som ble brukt var 100 mg/kg. Antall rotter som fødte og antall unger som ble født ble registrert for å studere mulige forsinket effekt etter dag 10. Ungene ble også observert i en måned for å se om det var noe teratogen effekt.

Resultat

I denne studien ble det ikke oppdaget noen form for antiimplantasjonseffekt i alle tre ekstraktene.

2.6 Antifertility & uterine activity of *Plumbago rosea* in rats [21]

I denne studien ble roten til *Plumbago rosea* L. undersøkt for sin antifertilitets og riforsterkende effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Roten til *Plumbago rosea* L. ble samlet inn fra landsbyen Jirango i Ganjam distriktet av Orissa, India.

Antifertilitets analyse

Metoden som ble brukt er beskrevet av (Khanna *et al.* 1969) Dyrene ble delt i to grupper hvor gruppe I fikk vannekstraktet av roten med dosen 35 mg/100 g fra syv til tolv dager. Gruppe II fikk hele roten av planten med dosen 105 mg/100 g fra dag en til dag ti av graviditeten. Dyrene i gruppe I ble avlivet og undersøkt på dag tretten, mens dyrene i gruppe II ble avlivet på dag seksten.

Analyse av effekten på livmoren

Dyrene ble gitt 200 µg østradiol dipropionat og deretter avlivet etter 15- 20 timer. Livmoren ble fjernet og undersøkt. Effekt av *Plumbago rosea* L. ble studert ved dosene 500 µg, 1 mg/ml, 2 mg/ml og 4 mg/ml.

Resultat

Studien viste at roten fra *Plumbago rosea* L. ikke viste antiferilitetseffekt verken i gruppe I (vannekstrakt) eller gruppe II (hele roten). Også i undersøkelsen av effekt på livmoren, viste planten ingen stimulerende effekt.

2.7 Uterotrophic, Fetotoxic and Abortifacient Effect of a Malaysian Variety of *Plumbago rosea* L. on Isolated Rat Uterus and Pregnant Mice [22]

Denne studien undersøkte om *Plumbago rosea* L. har en antifertilitets effekt som det har blitt nevnt i tradisjonell medisinen.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plumbago rose L. ble samlet inn fra Penang i Malaysia.

Forberedelse av ekstrakt

Røttene ble kuttet i mindre deler og tørket i ovnen ved 40 grader i 48 timer. Videre ble røttene pulverisert og bløtgjort med destillert vann i et vannbad som var forvarmet til 40 grader i 24 timer. Deretter ble materialet filtrert først gjennom et tøy stykke av lin, deretter et filter papir. Etter flere behandlinger for å fjerne blant annet stivelse, proteiner og tanniner ble slutt filtratet tørket i en roterende fordampings apparat ved 70 grader. Tørket material ble deretter løst opp i metanol og tørket igjen inntil en konsentrert løsning var oppnådd.

Analysene

I studien ble det gjort en *in vitro* og en *in vivo* analyse. I *in vitro* analysen ble det brukt livmoren til gravide og falsk-gravide albino rotter. Ekstrakt fra *Plumbago rosea* L. ble undersøkt om den hadde hemmende effekt på acetylkolin og oksytocin. I *in vivo* analysen ble det brukt albino mus av begge kjønn. Gravide mus ble delt opp i fem behandlings grupper og en kontroll gruppe. Gruppene som fikk behandling fikk forskjellige doser av ekstraktet, mens kontroll gruppen fikk destillert vann. Etter endt behandling ble dyrene i begge analysene avlivet og undersøkt.

Resultat

Resultatene fra begge analysene viste at *Plumbago rosea* L. hadde en doseavhengig hemmende effekt på livmorkontraherende effekt av rforsterkende midler, isolert hos livmor av gravide og falsk-gravide rotter. Planten ble også funnet til å ha en signifikant fosterskadende effekt og mild abortfremkallende effekt hos gravide mus som ble gitt 400 mg/kg og 800 mg/kg daglig i ti dager.

2.8 Wound Healing Activity of the Chloroform Extract of *Plumbago rosea* Linn. and *Plumbagin* [23]

Sårtilhelende effekten av kloroformekstraktet av *Plumbago rosea* L. ble undersøkt i denne studien.

Framgangsmåte

Plantematerial

Røttene til *Plumbago rosea* Linn ble skaffet fra det lokale markedet i Chennai, Tamil Nadu i India.

Forberedelse av ekstrakt

Skygge tørket og grovt pulverisert røtter ble ekstrahert med kloroform ved hjelp av kald filtrerings metoden (48 timer). CHCl_3 ekstraktet ble videre filtrert og destillert på et vannbad. Deretter ble ekstraktet konsentrert i vakuum for å få et rødbrunt sirupaktig stoff.

Isolering av plumbagin

Plumbagin ble isolert ved hjelp av vanndamp destillasjon av CHCl_3 ekstrakt av røttene. Forbindelsen er dannet av krystallisering fra petroleter.

Dyr

Hannkjønn Wistar albino rotter som veide mellom 180-220 g ble brukt.

Analyse

I denne studien ble det brukt to modeller, eksisjon (bortskjæring av vev) og incisjon (innsnitt). I modellen eksisjon var dyrene delt opp i fire grupper. Gruppe I var kontrollen (ubehandlet), gruppe II ble behandlet med 0,5 % w/w *Plumbago rosea* ekstrakt salve. Gruppe III ble behandlet med 0,1 % w/w plumbagin salve og gruppe IV fikk standart behandling i form av framycetin sulfat krem (1 % w/w). Dyrene fikk behandling helt til såret var fullstendig grodd igjen. I incisjons modellen ble dyrene også delt opp i fire gruppe. Disse gruppene fikk samme behandling som i eksisjons modellen. Dyrene fikk behandling en gang daglig i ti dager.

Resultat

Resultatene viste at sammentrekningen av såret ble registrert etter 14 dager i gruppen med plumbagin, 16 dager i gruppen med ekstrakt av *Plumbago rosea* L. og 22 dager i gruppen med kontrollen. Fra resultatene er det vist at både kloroformekstrakt av *Plumbago rosea* L. og plumbagin har en signifikant sårtilhelende effekt, som kan sammenlignes med standard legemiddelet framycetin sulfat krem.

2.9 *In vivo* tumor inhibitory and radiosensitizing effects if an Indian medicinal plant, *Plumbago rosea* on experimental mouse tumors [24]

Denne studien undersøkte *Plumbago rosea* L. hemmende effekt på tumor vekst i mus og for å se om den kan øke tumor drepende effekt av andre behandlings metoder.

Framgangsmåte

Plantematerial

Røttene av planten ble samlet inn fra det lokale området.

Ekstraksjon

Røttene ble vasket og skyggetørket før de ble pulverisert og ekstrahert med 95 % etanol i et Soxhlet apparat. Metoden som ble brukt er beskrevet av (Suffness and Douros 1979). Residuet som ble dannet ble veid og oppløst i 30 % PEG 400 (polyetylen glykol) for å oppnå riktig konsentrasjon.

Tumor

I denne studien ble det brukt Sarcoma-180 og Ehrlich ascites carcinoma.

Eksperimentet med Sarcoma-180

Plumbago rose L. ble både testet som alene behandling og i kombinasjon med strålebehandling og hypertermi.

Doser mellom 50 mg/kg og 100 mg/kg ble injisert intraperitonealt i ti dager etter hverandre. Injeksjonen startet 24 timer etter at tumor transplantasjon har funnet sted. I undersøkelsen med andre behandlings metoder, ble rekkefølgen strålebehandling + hypertermi eller hypertermi + strålebehandling innledet tre timer etter injeksjonen av ekstraktet.

Eksperiment med Ehrlich ascites carcinoma

Tjuefire timer etter injeksjon av tumoren, ble dyrene delt opp i fire grupper. Hver gruppe fikk en egen behandling. Gruppe I var kontrollen (0,2 ml of PEG 400), gruppe II fikk kun ekstraktet (50 mg/kg eller 75 mg/kg), gruppe III fikk kun strålebehandling (7.5 Gy gamma stråling) og gruppe IV fikk både ekstrakt og strålebehandling.

Alle musene ble veid på dagen tumoren ble inokulert og en gang hver uke i løpet av forsøket. Overlevelse av dyrene ble registrert opptil 120 dager.

Resultat

Eksperimentet med Sarcoma-180 viste at ekstraktet med en dose på 75 mg/kg har evnen til å hemme veksten av tumoren fullstendig i omtrent 30 % av dyrene, hvis ekstraktet ble injisert i en tidlig stadium (24 timer etter tumor inokulasjon). Ved injisering på en senere tidspunkt vil effekten kun kanskje være halvparten så bra. Hvis ekstraktet kombineres med en dose av strålebehandling vil effekten tilsvare effekten til 100 mg/kg ekstrakt. Hvis ekstraktet kombineres med en dose av hypertermi vil effekten ikke være noe større enn behandling med ekstrakt og strålebehandling. En kombinasjon med alle tre behandlingene vil forsterke den hemmende effekten. Mot Sarcoma-180 viste det seg at ekstraktet fungerte best i en kombinasjonsbehandling.

Eksperimentet med Ehrlich ascites tumor viste også at ekstraktet fra *Plumbago rosea* L. alene hadde en svak antitumor effekt, men i kombinasjon med en dose strålebehandling var effekten mye større. På denne måten kan ekstraktet fra *Plumbago rosea* L. brukes som en hjelpemiddel til å forsterke effekten av strålebehandlingen.

3) Konklusjon og diskusjon

Roten til *Plumbago indica*/*Plumbago rosea* L. ble blant annet brukt i India som et abortmiddel, et appetittvekkende middel, et magestimulerende middel, et blæretrekkende middel og middel til å øke spyttsekresjonen. Roten ble også brukt mot revmatisme, lammelse, betent og hoven lymfeknute, hudsykdommer, anoreksi, dyspepsi, oppblåsthet og fordøyelsesproblemer. Planten har også blitt brukt mot hemoroider, spedalskhet og sekundær syfilis. Videre er juicen fra roten også brukt mot skabb.

I Kina ble planten brukt mot menstruasjons blokk, underlivssmerter under menstruasjon og ømhet ved begynnende sårdannelse.

I Malaya ble planten brukt som abortfremkallende middel, brukt mot hoste, revmatisme, hevelse i kjertelceller og spedalskhet.

På Java ble roten brukt mot ormer hos hestene, mot hodepine og ”beriberi”.

Hos Chakma stammen i Bangladesh ble roten av *Plumbago indica* L. brukt til å behandle magesmerter.

Studier

Plumbago indica L.

I en studie ble bladene til *Plumbago indica* L. undersøkt for sitt antimikrobielle aktivitet. Testorganismene var *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* og *Aspergillus niger*. Resultatene fra studien viste at bladene fra *Plumbago indica* L. var en av de fem plantene som viste effekt mot alle testorganismene.

I en annen studie ble bladene til *Plumbago indica* som var samlet fra Puerto Rica også undersøkt for sitt antibakterielle aktivitet. Test organismene her bestod av *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*, *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Arthrobacter globiformis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Micrococcus roseus*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium rodochrus* og *Mycobacterium smegmatis*. Resultatene viste at bladene ikke hadde effekt mot *Escherichia coli* og *Staphylococcus aureus*.

Bladene og røttene til *Plumbago indica* L. ble i en studie undersøkt for sin antivirale effekt. HSV-1, poliovirus og meslinger virus var brukt i denne studien. Fra studien ble det vist at etanolekstraktet av bladene til planten viste en merkbar hemmende effekt på kun HSV-1.

Plumbago indica L. har blitt undersøkt for sin immunsuppressive effekt i en studie. Resultaten fra studien viste at det var kun metanolekstraktet av planten som viste effekt.

***Plumbago rosea* L.**

Det er blitt funnet tre studier som undersøkte antifertilitets effekten av *Plumbago rosea* L. I den ene studien viste resultatet at planten ikke hadde noen form for antiimplantasjonseffekt. Resultatet fra den andre studien viste at planten ikke hadde antifertilitetseffekt og at planten ikke hadde noen stimulerende effekt på livmoren. Derimot viste den tredje studien at *Plumbago rosea* L. hadde en doseavhengig hemmende effekt på livmorkontraherende effekt av riforsterkende midler. Samtidig ble det også funnet at planten hadde en signifikant fosterskadende effekt og en mild abortfremkallende effekt.

Videre er det funnet en studie som undersøkte sårtilhelende effekten av *Plumbago rosea* L. Fra studien ble det vist at både kloroformekstrakt av *Plumbago rosea* L. og plumbagin har en signifikant sårtilhelende effekt, som kan sammenlignes med standard legemiddelet framycetin sulfat krem.

Den siste studien som ble funnet undersøkte antitumor effekten til *Plumbago rosea* L. I studien ble det brukt Sarcoma-180 og Ehrlich ascites carcinoma. I begge eksperimentene med forskjellige tumor typene, viste det seg at planteekstraktet alene har en svak antitumor effekt. Men i en kombinasjons behandling forsterket planteekstraktet effekten av de andre behandlingsformene. Studien viste at strålebehandlingen fikk en bedre effekt i kombinasjon med planteekstraktet.

Det er blitt nevnt at *Plumbago indica*/*Plumbago rosea* L. har blitt brukt som et abortmiddel. På dette området har det blitt funnet tre studier hvor to av dem viste at planten ikke hadde denne effekten, mens den tredje viste at planten hadde denne effekten. Grunnen til at resultatene er så forskjellige kan være på grunn av dosene som ble brukt i studiene. I studien som viste effekt ble det brukt dosene 400 mg/kg og 800 mg/kg. Mens i de andre studiene ble det brukt dosene 100 mg/kg i den ene studien, og 35 mg/100 g og 105 mg/ 100 g i den andre studien. Det er kun dosen i den ene studien (100 mg/kg) som skiller seg ut, kanskje dette kan være avgjørende. På grunn av at resultatene er så forskjellige er det vanskelig å kunne konkludere om planten har denne effekten. Derfor må det utføres flere studier på dette området før en vitenskapelig bekreftelse kan gis.

Det er også blitt nevnt at planten har blitt brukt mot forskjellige hudsykdommer som spedalskhet og skabb. På dette området er det også funnet studier som undersøkte plantens antibakteriell og

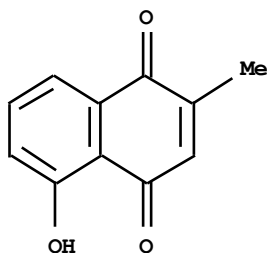
antisopp effekt. Også her var resultatene forskjellige. I den ene studien ble det vist at planten har effekt mot blant annet *Escherichia coli* og *Staphylococcus aureus*, mens i den andre studien hadde planten ikke effekt mot disse to bakteriene. Hvorfor resultatene ble forskjellige er ikke lett å si, kanskje det har noe med ekstraktdosene som ble brukt. I studien med negativ resultat ble det ikke nevnt hvilke ekstraktdoser som ble brukt. Det er et faktum at mange hudlidelser skyldes bakterier og sopp [25], og at planten viser antibakteriell og antisopp effekt gir det en vitenskapelig støtte til tradisjonell bruken. Men siden det ble funnet veldig få studier på dette området, samtidig som resultatene ikke er like, er det nødvendig med flere studier. HVS-1 er viruset som kan føre til hudsykdommen herpes labialis [26]. Ved å ha vist effekt mot dette viruset har denne indikasjonen fått mer vitenskapelig støtte. Videre har *Plumbago indica* L. vist å ha en sårhelende effekt, og sår er en tilstand som kan forekomme i enkelte hudsykdommer. Med dette har denne indikasjonen fått ytterligere vitenskapelig støtte.

På de andre indikasjonene har det ikke blitt funnet noen form for vitenskapelige studier. *Plumbago indica* L. har mange spennende bruksområder som trenger dokumentasjon før det kan nyttegjøres av plantens påståtte egenskaper.

Tradisjonell bruken av *Plumbago indica*/*Plumbago rosea* L. er ikke kjent i Burma, derfor er det ikke mulig å vurdere om bruken har vitenskapelig støtte.

4) Kjemiske strukturer

1: Plumbagin



Litteratrurliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Chatterjee, P. M. A. and Pakrashi, D. S. C.: *The Treatise On Indian Medicinal Plants*. bind 4, Publications & Information Directorate, New Delhi 1995, s. 53-55.
3. Ukjent: *Plumbago indica* Linn. The Wealth of India; a dictionary of Indian raw materials & industrial products. Council of Scientific & Industrial Research, 1948-1976. **8**, 162-163.
4. Chopra, R. N., Nayar, S. L., and Chopra, I. C.: *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific & Industrial Research Publication, New Delhi, 1956, s.197.
5. Yan, X., Zhou, J., and Xie, G.: *Traditional Chinese Medicine - Molecular Structures, Natural Sources, and Applications*. Ashgate Publishing Limited, Hampshire 1999, s. 716.
6. Burkill, I. H., M.A., and F.L.S.: *A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula*. bind 2, Ministry of Agriculture and Co-Operatives, Kuala Lumpur 1966, s. 1804-1806.
7. Roy, S., Uddin, M. Z., Hassan, M. A., and Rahman, M. M.: *Medico-botanical report on the Chakma community of Bangladesh*. Bangladesh Journal of Plant Taxonomy, 2008. **15**(1), 67.
8. Bajpai, A., Ojha, J. K., and Sant, H. R.: *Medicobotany of the Varanasi District, Uttar Pradesh, India*. Pharmaceutical Biology, 1995. **33**(2), 172-176.
9. Dinda, B. and Chel, G.: *6-Hydroxyplumbagin, a naphthoquinone from Plumbago indica*. Phytochemistry, 1992. **31**(10), 3652-3653.
10. Dinda, B., Chel, G., and Achari, B.: *A dihydroflavonol from Plumbago indica*. Phytochemistry, 1994. **35**(4), 1083-1084.
11. Dinda, B., Hajra, A. K., and Das, S. K.: *Chemical constituents of Plumbago indica roots*. Indian journal of chemistry. Sect. B: Organic chemistry, including medical chemistry, 1998. **37**(7), 672-675.
12. Dinda, B., Das, S. K., Hajra, A. K., Bhattacharya, A., De, K., Chel, G., and Achari, B.: *Chemical constituents of Plumbago indica roots and reactions of plumbagin: Part II*. Indian journal of chemistry. Section B: Organic chemistry, including medical chemistry, 1999. **38**(5), 577-582.
13. Kapadia, N. S., Isarani, S. A., and Shah, M. B.: *A simple method for isolation of Plumbagin from roots of Plumbago rosea*. Pharmaceutical Biology (Philadelphia, PA, United States), 2005. **43**(6), 551-553.
14. Katti, M. C. T. and Patwardhan, V. N.: *Chemical examination of the root bark of Plumbago rosea, Linn*. Journal of the Indian Institute of Science, 1932. **15A**, 9-16.
15. Dinda, B., Das, S. K., and Hajra, A. K.: *Naphthoquinones from the roots of Plumbago rosea Linn*. Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 1995. **34B**(6), 525-8.
16. Valsaraj, R., Pushpangadan, P., Smitt, U. W., Adersen, A., and Nyman, U.: *Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India*. Journal of Ethnopharmacology, 1997. **58**(2), 75-83.
17. Meléndez, P. A. and Capriles, V. A.: *Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico*. Phytomedicine, 2006. **13**(4), 272-276.

18. Akanitapichat, P., Kurokawa, M., Tewtrakul, S., Pramyothin, P., Sripanidkulchai, B., Shiraki, K., and Hattori, M.: *Inhibitory activities of Thai medicinal plants against herpes simplex type 1, poliovirus type 1, and measles virus*. Journal of Traditional Medicines, 2002. **19**(5), 174-180.
19. Arokiyaraj, S., Perinbam, K., Agastian, P., Balaraju, K., Statistics, A., Comments, R., and Downloaded, P. D. F.: *Immunosuppressive effect of medicinal plants of Kolli hills on mitogen-stimulated proliferation of the human peripheral blood mononuclear cells in vitro*. Indian Journal of Pharmacology, 2007. **39**(4), 180-183.
20. Vohora, S. B., Garg, S. K., and Chaudhury, R. R.: *Antifertility screening of plants. 3. Effect of six indigenous plants on early pregnancy in albino rats*. The Indian journal of medical research, 1969. **57**(5), 893-9.
21. Lal, R., Sankaranarayanan, A., and Mathur, V. S.: *Antifertility & uterine activity of Plumbago rosea in rats*. The Indian journal of medical research, 1983. **78**, 287-90.
22. Abdul Sattar, M., Abdullah Nor, A., Khan Md Abdul, H., Dewa, A., and Samshia, D.: *Uterotrophic, fetotoxic and abortifacient effect of a Malaysian variety of Plumbago rosea L. on isolated rat uterus and pregnant mice*. Pakistan journal of biological sciences: PJBS, 2007. **10**(5), 763-7.
23. Saraswathy, A., Chandran, R. V. P., Manohar, B. M., and Vairamuthu, S.: *Wound healing activity of the chloroform extract of Plumbago rosea Linn. and plumbagin*. Natural Product Sciences, 2006. **12**(1), 50-54.
24. Devi, P. U., Solomon, F. E., and Sharada, A. C.: *In vivo tumor inhibitory and radiosensitizing effects of an Indian medicinal plant, Plumbago rosea on experimental mouse tumors*. Indian journal of experimental biology, 1994. **32**(8), 523-8.
25. Bjerke, J. R.: *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell 2007*. Fagbokforlaget AS, John Grieg AS, Bergen, 2007, s. 435-458.
26. Bjerke, J. R.: *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell 2007*. Fagbokforlaget AS, John Grieg AS, Bergen, 2007, s. 443.

Referanse til foto av planten

Ukjent: Vivaio Piantetropicali.

URL: <http://www.piantetropicali.com/tropicalsicily/home.php> 06.05.09

***Pterospermum acerifolium* Willd.**



***Pterospermum acerifolium* Willd.**

Familie: Sterculiaceae.

Botanisk navn: *Pterospermum acerifolium* Willd.

Burmesisk navn: Taung-petwun, Sinna [1], Thamajamwaisoke. [2]

Bengal: Kanakchampa.

Bombay: Kanakchamba, Karnikara.

Canarese (Canara (Distrikt i Britisk India): Kanakachampaka, Rajataru.

Hindi: Kanakchampa, Kaniar, Kathachampa.

Jaunsar: Mayeng.

Konkani: Kanokchampo.

Magahi: Gaik.

Michi: Laider.

Nepal: Hattipaila.

Filippinsk: Bayoc.

Sanskrit: Karnikara, Mushukunda, Padapotpala, Parivyadha.

Santal: Machkunda.

Tamilsk: Vennangu.

Telugu: Matsakanda.

Uriya: Konokochompa, Mushukundo. [2]

Lepcha: Seeemkung [2], Numbong. [3]

Assam: Hatipeala, morra, moragos.

Khasi: Dieng-khong-swet, dieng-tharo-masi.

Lushai: Waisip-thing.

Oriya: Kanako champa.

”Trade name”: Hathipaila. [3]

Aktiv del av planten: Bladene og barken.

Tradisjonell bruk i Burma

Planten ble brukt i forbindelse med hudsykdommer. [1]

Tradisjonell bruk i India

Blomstene smaker bittert og ble brukt som tonic (styrkemiddel) og som kur i behandling av blod problemer, inflammasjon, åpne sår, svulster og spedalskhet. Blomstene ble også brukt som desinfeksjonsmiddel og insektmiddel. [3]

Tradisjonell bruk i Vest Bengal

Blomstene ble brukt som desinfeksjonsmiddel, insektmiddel og som medisin i det lokale miljøet. Veden ble brukt for å lage møbler, leketøy og matematiske instrumenter. [4]

Tradisjonell bruk i Konkan (India)

Blomstene og barken ble forkullet og blandet med kamala pulver fra *Mallotus philippensis* for å bruke på kopper utbrudd. Blomstene ble også røykt sammen med tobakk. [3] Blomstene var også nyttig i forbindelse med leukorrhoea (hvit utflod). [5] Videre er blomstene også brukt som avføringsmiddel, ormemiddel, middel mot abdominale smerte, middel mot ascites og urinutflod. [2]

Bladene ble brukt som fat, taktekkingsmateriale og som pakkepapir for tobakk. [3] Bladene ble også brukt til å stoppe blødning på sår. [2]

Tradisjonell bruk av folkestammen Apatani av Arunachal Pradesh

Blomstene fra *Pterospermum acerifolium* Willd. ble brukt i behandling av øreverk. [6]

Tradisjonell bruk i Similipal Biosphere Reservat, Orissa, India

Planten ble brukt i behandling av inflammasjon, åpne sår, svulster, spedalskhet og som antidiabetika. Tørket blomster ble pulverisert og røykt som tobakk for å få en antispasmodisk effekt. [7]

Fakta om treet

Pterospermum acerifolium Willd. er et eviggrønt tre, som kan være opptil 24 m i høyden, 2.5 m i omkretsen og har en trestamme som kan være opptil 12 m. Barken har en grå brun farge. [3]

Splintveden fra treet er blekhvit, mens kjerneveden har en lys rosa-rød farge. [5]

Bladene kan variere i både størrelse og form. De ligger på omtrent 25-35 cm x 15-30 cm.

Formen på bladene kan være hel, flikete, avlange, hjerteformet eller av og til skjoldaktig formet (stilkene ligger omtrent midt på bladet og ikke ved kanten).

Blomstene er store og ligger på omtrent 12-15 cm i diameter. De kan forekomme enkeltvis eller parvis. Blomstene har en hvitaktig farge og er velluktende.

Fruktene er treaktige kapsler som er femkantet, mørkebrune og avlange.

Frøene er brune og vingete. [3]

Pterospermum acerifolium Willd. får blomster i perioden fra mars til april, og frukt etter blomstrings perioden. [5]

Pterospermum acerifolium Willd. er funnet i området rundt den nedre delen av Himalaya. I området fra Yamuna og østover til Vest Bengal, i Assam og Manipur, og opptil en høyde på 1200 m. Planten befinner seg også i Ramnagar bakkene av Bihar og i den vestlige delen av Ghatsfjellene av Konkan og Nord Kanara. Videre er planten også vanlig å finne i Andamans. [3] *Pterospermum acerifolium* Willd. er også å finne på Bangladesh, Bhutan, Laos, Malaysia, Myanmar, Nepal og Thailand. [8] Treet er funnet i forskjellige område som sumpområdene av Dehra Dun, eviggrønn regnskog av Nord Kanara og langs elvebredden i området rundt den nedre delen av Himalaya. Det er også vanlig å finne treet i hager og oppkjørsler. [3]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

1.1 *The treatise on indian medicinal plants* [5]

Kjemiske konstituenten

Frøene

Aminosyrer og sukker: n-triacontanol, 3,7-dietyl-7-metyl-1,5-pentacosanolide, n-heksacosan-1,26-diol og dets dilignocerate, 24 β -etyl-cholest-5-en-3 β -O- α -cellobioside, β -sitosterol, β -amyrin, friedelan-3 α og 3 β -oler, kaempferol, kaempferide-7-O- β -D-glukopyranosid, fettsyrer, arachidinsyre, arachidonsyre, behensyre, linolsyre, linolensyre, lignocerinsyre, myristinsyre, palmetinsyre og stearinsyre.

Blomsten

Består av aminosyrer og en polysakkarid bestående av D-galakturonsyre, D-galaktose og L-rhamnose.

Barken

Barken består av kaempferol-3-O- β -D-galaktosid, luteolin og dets 7-O- β -D-glukuronid og quercetin glykosider.

1.2 *Chemical Study of the Seed of Pterospermum acerifolium* [9]

Framgangsmåte

Etanolekstraktet av frøet av *Pterospermum acerifolium* som ble konsentrert under redusert trykk gav et halvfast og klissete stoff.

Videre ble stoffet ekstrahert med eter og benzen for å fjerne klorofyll og fettholdige materialer. Deretter ble stoffet ekstrahert med varmt vann og filtrert. Filtratet og residuet som var resultatet av ekstraksjonen ble studert hver for seg.

Filtratet

10 ml av vannekstraktet ble sentrifugert og så kromatografert på Whatman No. 1 filterpapir ved å bruke en blanding av n-butanol, eddiksyre og vann (4:1:5) som løsningsmiddel. Ninhydrin ble brukt som spray reagens. Videre ble vannekstraktet behandlet med bly acetat og det ble dannet et bunnfall som ble separert ved hjelp av filtrering.

Residuet

Residuet ble behandlet med aceton. Deretter ble løsningsmiddelet fordampet fullstendig under redusert trykk. Residuet som da ble dannet ble kromatografert på TLC plate.

Resultat

Filtratet ble undersøkt og funnet til å inneholde glycine, tyrosine, cystine og alanine. Bunnfallet som ble dannet etter behandling med bly acetat ble studert og bekreftet til å inneholde en glykosid, β -amyrin.

Når det gjelder residuet, så er det ifølge denne studien ikke blitt ferdig undersøkt.

1.3 Chemical Examination of the Plant *Pterospermum acerifolium* – Study of the Seed Oil [10]

Framgangsmåte

4 kg av lufttørket og pulverisert frø ble ekstrahert med petroleter (40-60 grader) i et Soxhlet apparat. Løsningsmiddelet ble fjernet fra ekstraktet og oppbevart i kjøleskapet over natten. Resultatet var at det ble dannet et halvfast, voksaktig bunnfall som senere ble separert ved filtrering.

Delen av bunnfallet som var løselig i petroleter ble separert i to fraksjoner, A og B, ved hjelp av kolonne kromatografi. Disse fraksjonene ble videre behandlet med metanol.

Delen av bunnfallet som ikke var løselig i petroleter ble behandlet med en løsningsmiddelblanding som bestod av kloroform og metanol (1:1).

Oljen fra frøet ble saponifisert ved å refluksere den med alkoholisert KOH. Videre ble fettsyrene delt opp i to gruppe, en fast og flytende del. Begge disse delene ble undersøkt ved hjelp av papir kromatografi.

Resultat

Fraksjon A i reaksjon med metanol gav en fargeløs, krystallaktig substans, γ -sitosterol.

Fraksjon B i reaksjon med metanol gav et fast stoff, β -sitosterol.

Delen av bunnfallet som ikke var løselig med petroleter som ble behandlet med en blanding av kloroform og metanol (1:1), gav nålaktige krystaller. Forbindelsen ble identifisert som β -amyrin. Oljen fra frøet ble undersøkt og bekreftet til å inneholde oljesyre, linolsyre, behensyre, arachidinsyre, stearinsyre, palmitinsyre og myristinsyre.

1.4 Chemical examination of the flowers of *Pterospermum acerifolium* wild. [11]

I denne studien ble det isolert to flavanol derivater fra blomsten av *Pterospermum acerifolium* Willd.

Framgangsmåte

Metoder som ble brukt i denne studien bestod av forskjellige farge reaksjoner, spektroskopiske analyser, I.R., acetylering, metylering og oksidering.

Resultat

De to flavanol derivatene ble identifisert som Kaempferol med smeltepunkt på 278 grader, og Kaempferide-7-glukosid med smeltepunkt på 268 grader.

1.5 Constituents of *Pterospermum aerifolium* Willd. leaves and bark [12]

Framgangsmåte

Plantematerial

Bladene og barken ble samlet inn fra skogen Sylhet i nordøst Bangladesh.

Ekstraksjon og isolering

Bladene og barken av *Pterospermum acerifolium* Willd. ble først lufttørket, deretter tørket i en ovn på 40 grader før de ble pulverisert. Pulver av bladene og barken ble separert og ekstrahert med kloroform og metanol. Etter ekstraksjonen ble ekstraktene konsentrert under redusert trykk ved en temperatur som ikke gikk over 40 grader.

Kloroformekstraktet av bladene ble kromatografert på silika gel flash kolonne, og det gav fjorten fraksjoner.

Metanolekstraktet av bladene ble suspendert i vann og separert med etylacetat. Andelen som var løselig i etylacetat ble videre kjørt gjennom kolonne kromatografi.

Metanolekstraktet av barken ble separert mellom kloroform med 10 % metanol og vann. Andelen som var løselig i den organiske fasen ble videre fraksjonert ved hjelp av kolonne kromatografi.

Resultat

Kloroformekstraktet av bladene gav forbindelsene **I-IV**, mens metanolekstraktet av bladene gav forbindelsene **I** og **II**. Og metanolekstraktet av barken gav forbindelsene **IV** og **V**.

Forbindelse I: Taraxerol

Forbindelse II: Friedelin

Forbindelse III: 1-friedelen-3-one

Forbindelse IV: β -sitosterol

Forbindelse V: β -sitosterol-3-O- β -D-glukosid

Forbindelsene **I**, **III** og **V** ble i denne studien isolert for første gang fra *Pterospermum acerifolium* Willd.

1.6 Flavonoids of Three *Pterospermum* Species [13]

Framgangsmåte

Friske blomster ble ekstrahert grundig med 90 % etanol under reflux. Residuet fra etanolekstraktet ble separert ved å bruke løsningsmidler med økende polaritet.

Resultat

Undersøkelsen av friske blomster av *Pterospermum acerifolium* Willd. gav forbindelsene kaempferol-3-O- β -D-galaktosid, luteolin og luteolin-7-O-glukosid.

Undersøkelse av bladene gav forbindelsene kaempferol-3-O- β -D-galaktosid, luteolin, luteolin-7-O- β -D-glukosid og luteolin-7-O- β -D-glukuronid.

1.7 Flavonoids, lignan and their glycosides from *Pterospermum acerifolium* Willd. [14]

I denne studien ble det isolert to flavonoider, to flavonoid glykosider og en lignan xylosid fra bladene og barken av *Pterospermum acerifolium* Willd.

Framgangsmåte

Plantematerial

Friske blomster og bark av *Pterospermum acerifolium* Willd. ble samlet inn fra skogen Sylhet i nordøst Bangladesh.

Ekstraksjon og isolering

Bladene og barken ble først lufttørket, deretter tørket i en ovn på 40 grader. Videre ble bladene og barken pulverisert hver for seg. Etter hvert ble bladene (3.0 kg) og barken (3.0 kg) ekstrahert først med kloroform og så med metanol. Ekstraktene som ble dannet ble deretter inndampet til tørrhet under redusert trykk ved en temperatur som ikke gikk over 40 grader.

Metanolekstrakt av barken

Metanolekstraktet av barken ble først separert mellom kloroform med 10 % metanol og vann, deretter med 1-butanol og vann. Videre ble delen av barken som var løselig i 1-butanol, oppløst i vann og separert med etylacetat. Etylacetat løselig del ble deretter separert ved hjelp av silika gel kolonne kromatografi.

Metanolekstrakt av bladene

Metanolekstraktet ble først suspendert i vann og separert først med etylacetat og deretter 1-butanol. En del av 1-butanol løselig material ble videre ekstrahert med etylacetat som inneholdt 1 % metanol. Residuet som ble dannet ble separert ved hjelp av Sephadex LH-20 gel kolonne (omvendt fase) med vann og løsningsmidler med økende polaritet.

Resultat

Metanolekstrakt av barken fra *Pterospermum acerifolium* Willd. gav forbindelsene β -sitosterol, I og II. Mens metanolekstraktet av bladene gav forbindelsene III, IV og V.

Forbindelse I: *Epi*-3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavan (*epi*-catechin).

Forbindelse II: Isolariciresinol-3-*O*- β -D-xylosid.

Forbindelse III: Eriodictyol.

Forbindelse IV: 5,7,4'-trihydroxy-5'-metoksyisoflavon-3'-*O*- β -D-glukosid.

Forbindelse V: Apigenin-6-*C*- β -D-glukosid.

1.8 Phytochemical studies of the flowers of *Pterospermum acerifolium* [15]

Framgangsmåte

Fortynnete petrolekstrakter av tørket blomster fra *Pterospermum acerifolium* Willd. gav ved konsentrering et halvfast stoff. Dette stoffet ble videre separert i to grupper med fraksjoner, den ene gruppen var løselig i eter og den andre gruppen var uløselig i eter.

Resultat

Undersøkelser med disse fraksjonene gav følgende forbindelser:

24 β -ethylcholest-5-en-3 β -*O*- α -cellobioside, 3,7-diethyl-7-methyl-1:5-pentacosanolide, dilignocerat av n-hexacosane-1,26-diol, friedelan-3 α -ol og dets β -isomere, β -amyrin, β -sitosterol, n-triacontanol og n-hexacosane-1,26-diol.

Det ble også oppdaget en blanding av syre og mettet hydrokarboner fra det fortynnete petrolekstraktet. Disse syrene ble identifisert som myristinsyre, palmitinsyre, stearinsyre,

arachidinsyre, behensyre, lignocerinsyre, oljesyre, linolsyre, linolensyre og en liten mengde av arachidonsyre.

1.9 Amino acid Content of the Trunk Bark of *Pterospermum acerifolium* [16]

Framgangsmåte

Barken fra trestammen ble tørket, pulverisert og behandlet i et Soxhlet apparat ved hjelp av petroleter. Testmaterialet ble først behandlet for å fjerne fettstoffer, deretter ble den behandlet trinnvis med vann, 0,2 % NaOH og 80 % etanol. Disse løsningsmidlene ble brukt til å isolere proteinene fra testmaterialet.

Aminosyrene ble identifisert ved hjelp av nedadgående papir kromatografiske metoder.

Etanolekstraktet av protein hydrolysatene ble kromatografert sammen med referanse aminosyrer på Whatman No. 1 filterpapir.

Resultat

Aminosyrer som ble funnet i barken fra trestammen av *Pterospermum acerifolium* var cystine, glycine, alanine, tyrosine og leucine

1.10 Phytochemical and pharmacological study of *Pterospermum acerifolium* Willd. growing in Egypt [17]

Framgangsmåte

Plantematerial

Frukt fra *Pterospermum acerifolium* Willd. ble samlet inn fra Zoological Garden, Giza, Egypt i september 2004.

Ekstraksjon og isolering

Pulveriserte frukter på omtrent 1850 g ble ekstrahert ved hjelp av filtrering ved å bruke varm alkohol. Dette ble gjort flere ganger helt til alt var ekstrahert fra testmaterialet. Alkoholekstraktet ble fordampet under redusert trykk for å gi et mørkebrun residuum. Residuet ble suspendert i vann og trinnvis ekstrahert med heksan, kloroform, etylacetat og butanol.

Kloroformekstraktet ble separert på en VLC kolonne på silika gel, og forbindelsene ble identifisert ved hjelp av TLC og sammenligning av spektrale informasjoner. Etylacetat residuet ble separert på VLC kolonne og forbindelsene ble også identifisert ved hjelp av TLC og spektrale informasjoner.

Resultat

Kloroform og etylacetat fraksjoner fra *Pterospermum acerifolium* Willd. gav fire forbindelser.

Forbindelse I: Metylester av protocahtekusyre.

Forbindelse II: β -sitosterol-3-O- β -D-glukosid.

Forbindelse III: Vanillinsyre.

Forbindelse IV: Protocahtekusyre.

2) Biologiske studier

2.1 *Evaluation of Hepatoprotective Activity of Ethanol Extract of Pterospermum acerifolium Ster Leaves* [18]

I denne studien ble etanolekstraktet av bladene fra *Pterospermum acerifolium* undersøkt for sin leverbeskyttende egenskap. Leverskadene ble indusert ved hjelp av CCl₄ (carbon tetrachloride).

Framgangsmåte

Plantematerial

Bladene av *Pterospermum acerifolium* ble samlet inn fra Bhopal, Madhya Pradesh.

Dyr

I denne studien ble det brukt 50 hannkjønn Wistar rotter som veide mellom 150-200 g.

Ekstraksjon

Bladene ble lufttørket i skygge, pulverisert og oppbevart i en lufttett beholder. Omtrent 1 kg av pulveret ble behandlet i et Soxhlet apparat. Deretter ble prøven delt opp i mindre partier, hvor hvert parti var på 250 g. Videre ble partiene satt under reflux med 90 % etanol i 72 timer.

Ekstraktene (partiene) ble til slutt slått sammen og konsentrert i vakuum.

LD₅₀ verdien av ekstraktet ble funnet til å være 250 mg/kg kroppsvekt.

Analysen

Dyrene ble delt i fire grupper. Gruppe I var kontrollen og fikk 1 % gummitragant. Dosen var på 1 ml/kg/døgn i 14 dager. Alle de andre gruppene fikk 0,1 ml/kg/døgn av CCl₄ *i.p.* i 14 dager.

Gruppe III fikk tillegg standard legemiddelet silymarin med en dose på 100 mg/kg/døgn *p.o.* i 14 dager. Gruppe IV fikk etanolekstrakt av *Pterospermum acerifolium* med en dose på 25 mg/kg/døgn *p.o.* i 14 dager.

Som nevnt ble leverskadene indusert i rottene ved hjelp av intraperitoneal injeksjon av CCl₄.

Etter injeksjonen ble det registrert en tydelig økning i den totale bilirubin, serum aminotransaminase (AST og ALT) og serum alkalinfosfat aktiviteter. Mens den totale mengde protein var sunket.

Resultat

Effekten av ekstraktet ble vurdert ut ifra biokjemiske parametere av leveren. Disse parametrene er den totale bilirubin, serum protein, alanin aminotransaminase, aspartat aminotransaminase og alkalinfosfat aktiviteter. Effekten ble også vurdert ut ifra mikroskopisk undersøkelse av vevet. Hos rottene som fikk etanolekstraktet av *Pterospermum acerifolium* ble skadene forårsaket av CCl₄ holdt under kontroll, gjennom gjenopprettelse av de normale nivåene av de biokjemiske parametrene. Resultatene fra mikroskopiske undersøkelsene viste at vevene var i fin stand. De hadde ikke noen form for nekrose eller andre tegn på skade.

Studien viste at etanolekstraktet av bladene fra *Pterospermum acerifolium* hadde en signifikant beskyttende effekt ovenfor leveren mot CCl₄. I forhold til silymarin viste etanolekstraktet en bedre effekt.

2.2 Chronic Effect of Pterospermum Acerifolium Bark on Glycemic and Lipidemic Status of Type 2 Diabetic Model Rats [19]

En subfraksjon (E4b) av etanolekstraktet av barken til *Pterospermum acerifolium* har blitt testet for sin akutt og kronisk effekt på blodsukkernivå og lipidnivå i samme undersøkelse.

Framgangsmåte

E4b ble gitt til rottene i 28 dager, mens kontrollgruppen fikk kun vann.

I det akutte eksperimentet, ble blodprøver tatt etter 0,30 og 75 minutter etter at E4b/vann har blitt gitt samtidig med en glukose mengde peroralt.

I det kroniske eksperimentet, ble effekten vurdert etter måling av glukose, fruktosamin, triglyserid, total kolesterol og HDL-kolesterol i den fastende plasma i begynnelsen og ved slutten av forsøket.

Resultat

Resultatet fra det akutte eksperimentet viste at E4b har en signifikant blodsukkersenkende effekt. I sammenligning med kontrollen hadde behandlede gruppen en signifikant lavere verdi av plasma fruktosamin.

Resultatet fra det kroniske eksperimentet viste at E4b gav en lavere verdi i de målte parametrene, bortsett fra nivået av HDL-kolesterolet, som ikke viste noe signifikant forandring.

Dataene viste at E4b senket både hyperglykemi og nivået av lipider som fører til aterosklerose i plasma hos rotter med type 2 diabetes.

Fraksjonen må undersøkes videre både kjemisk og biologisk.

2.3 Antimicrobial Activity and Ethnomedicinal Uses of Some Medicinal Plants from Similipal Biosphere Reserve, Orissa [7]

Pterospermum acerifolium var en av 40 planter som ble testet for sin antimikrobielle egenskap.

Framgangsmåte

Bladene ble samlet inn fra Similipal Biosphere Reservat.

Forberedning av planteekstrakt

Bladene ble tørket og pulverisert, 20 g av pulveret ble løst i 100 ml av steril destillert vann. Videre ble ekstraktet dampet i 30 minutter i en trykkoker. Etter dampingen ble prøven inkubert ved romtemperatur i 48 timer. Deretter ble suspensjonen filtrert (Whatman No. 40), og filtratet ble etterfylt opptil 100 ml med steril destillert vann.

”Agar cup method”

”Agar cup method” av (Bauer *et al.* 1966) ble brukt for å dobbel sikre antibakteriell effekten av ekstraktet. MHA plater ble smurt godt med test organisme fra Muller Hinton Broth. Brønner på 0,8 mm i diameter ble laget i agaren, og bunnen av brønnene ble dekket med 50-100 µl av flytende MHA. Videre ble 100 µl av ekstraktet tilsatt til brønnene. Vannet fra ekstraktet ble fordampet og platene inkubert ved 37 grader i 18-24 timer. En klar sone som ble dannet rundt brønnene bekrefter at ekstraktet har antibakteriell effekt. Forsøket ble gjennomført tre ganger og gjennomsnitts størrelse på inhiberingssonen ble tatt med i vurderingen.

Resultat

Pterospermum acerifolium var en av 40 planter som ble testet i denne studien. Plantene ble testet med både gram positive og gram negative bakterier. Av de 40 plantene var det 23 planter som viste tegn til antimikrobiell aktivitet. Blant disse 23 plantene var det 14 planter medregnet *Pterospermum acerifolium* som viste en fremragende antimikrobiell aktivitet med en inhiberingssone større enn 20 mm.

2.4 Phytochemical and pharmacological study of *Pterospermum acerifolium* Willd. growing in Egypt [17]

I denne studien ble *Pterospermum acerifolium* Willd. undersøkt for sin febernedsettende effekt, smertestillende effekt, akutt antiinflammatorisk effekt og akutt blodsukkersenkende effekt.

Framgangsmåte

Dyr brukt i eksperimentet

Voksne hannkjønn albino rotter av Sprague Dawley Strain som veide mellom 130-150, og albino mus som veide mellom 25-30 g ble brukt. Musene ble hentet inn fra National Research Center.

Legemidler og kjemikalier brukt i eksperimentet

Indomethacin, Carrageenan, Dipyrone-metamizol, Paracetamol, Metformin, Alloxan og Biomeruix screening kit som brukes til å estimere glukosenivå i blodet.

Plantematerial

Alkoholekstraktet og vannekstraktet av fruktene ble brukt i studien. Vannekstraktet ble tilberedt ved å ekstrahere 250 g pulverisert frukt med varmt vann. Dette gav et residuum på 18.4 g.

Bestemmelse av median lethal dose (LD₅₀)

LD₅₀-verdien av alkoholekstraktet og vannekstraktet av fruktene fra *Pterospermum acerifolium* Willd. ble estimert etter prosedyren beskrevet av (Karber 1931). Eksperimentet ble gjort på hannkjønn albino mus.

Febernedsettende aktivitet

Febernedsettende effekt av ekstraktene ble evaluert og sammenlignet med paracetamol. Prosedyren fulgte metoden som er beskrevet av (Bush og Alexander 1960). 24 hannkjønn albino rotter ble delt i fire grupper. Den ene gruppen fikk 1 ml saltvann og fungerte som negativ kontroll. Den andre gruppen fikk 20 mg/kg paracetamol og fungerte som positiv kontroll. De to andre gruppene fikk 100 mg/kg av ekstraktet (alkoholekstrakt og vannekstrakt). Rektaltemperaturen ble målt både før og etter forsøket for å kunne sammenligne verdiene.

Smertestillende aktivitet

Smertestillende aktivitet ble evaluert etter metoden av (Charlier *et al.* 1961), ved å bruke en elektrisk strøm som stimuli tilført til rottens hale ved hjelp av 515 Master Shocker. Forsøksdyrene ble delt i fire grupper. Den ene gruppen fikk 1 ml saltvann, den andre og tredje fikk 100 mg/kg av testekstraktene. Kontroll gruppen her fikk 50mg/kg Novalgin. Minste verdi av spenning som kreves for å få rottene til å gi et rop fra seg ble notert fra de fire gruppene.

Akutt antiinflammatorisk aktivitet

Antiinflammatorisk effekt av ekstraktene ble evaluert og sammenlignet med indomethacin etter metoden som er beskrevet av (Winter *et al.* 1962). Forsøksdyrene ble delt i fire grupper. Gruppe I fikk 1 ml saltvann, gruppe II fikk 20 mg/kg av indomethacin, gruppe III og IV fikk 100 mg/kg av testmaterialene. Inflammasjon hos dyrene ble indusert ved injisering av 0,1 ml av 1 % carrageenan løsning i saltvann.

Akutt blodsukkersenkende aktivitet

Diabetes mellitus ble indusert i rotter etter metoden beskrevet av (Eliasson and Samet 1969), hvor en injeksjon av alloxan ble gitt rottene. Rottene ble delt i tre grupper, hvor den ene fikk metformin som fungerte som kontroll, mens de to andre fikk ekstraktene fra *Pterospermum acerifolium* Willd.

Resultat

LD₅₀ verdier av alkoholekstraktet og vannekstraktet ble vist til å være 7.6 g/kg og 7.9 g/kg

Resultatene fra de forskjellige forsøkene viste at ekstrakt fra fruktene av *Pterospermum acerifolium* Willd. har smertestillende, febernedsettende og blodsukkersenkende effekt. Disse effektene ble regnet til å bli mindre potente enn effektene fra standard legemidlene. Derimot så viste alkoholekstraktet av fruktene en signifikant antiinflammatorisk effekt i forhold til indomethacin. Effekten ble regnet til å være omtrent 61 % av indomethacin sin potensial.

3) Konklusjon og diskusjon

Pterospermum acerifolium Willd. ble tradisjonelt brukt i Burma i forbindelse med hudsykdommer (kopper).

I India ble blomstene brukt som tonic (styrkemiddel), som kur i behandling av blod problemer, ved inflammasjon, ved åpne sår, svulster og spedalskhet. Videre ble blomstene fra planten også brukt som desinfeksjonsmiddel og insektmiddel.

I Vest Bengal ble blomstene også brukt som desinfeksjonsmiddel og insektmiddel. Andre bruksområder som planten har hatt er blant annet at veden ble brukt til å lage møbler, leketøy og matematiske instrumenter.

I Konkan ble forkullet bark blandet med kamala pulver for å behandle kopperutbrudd. Blomstene ble brukt i forbindelse med tobakkrøyking, leukorrhoea, brukt som avføringsmiddel, ormemiddel, middel mot abdominale smerter, middel mot ascites og brukt ved urinutflod. Bladene ble brukt som fat, taktekkingsmaterial, brukt som pakkepapir for tobakk og brukt for å stoppe blødning fra sår.

Hos stammen Apatani ble blomstene fra *Pterospermum acerifolium* Willd. brukt i behandling av øreverk.

Ved Similipal Biosphere reservatet ble planten *Pterospermum acerifolium* Willd. brukt i behandling av inflammasjon, åpne sår, svulster, spedalskhet og diabetes. Tørket blomster ble også brukt som et antiplasmodisk middel.

Studier

I en studie ble *Pterospermum acerifolium* Willd. undersøkt for sin beskyttende effekt ovenfor leveren. Resultatet viste at planten hadde en signifikant leverbeskyttende mot skader induisert av CCl₄.

I en annen studie ble en subfraksjon (E4b) av etanolekstraktet av barken til *Pterospermum acerifolium* testet for sin akutt og kronisk effekt på blodsukkernivå og lipidnivå. Resultatet fra studien viste at subfraksjonen hadde en blodsukkersenkende og lipidsenkende effekt.

I en tredje studie ble *Pterospermum acerifolium* Willd. undersøkt for sin antimikrobiell aktivitet. *Pterospermum acerifolium* Willd. var en av 40 planter som ble undersøkt og planten viste en fremragende antimikrobiell aktivitet.

Videre ble planten også undersøkt og funnet til å inneholde smertestillende, febernedssettende og blodsukkersenkende effekt. Men disse egenskapene var mindre potente enn positive kontroller brukt i studien. I samme studie ble det også oppdaget at planten hadde en signifikant antiinflammatorisk effekt sammenlignet med positiv kontrollen.

Gjennom de forskjellige studiene som er tilgjengelige kan det bekreftes at mange av de indikasjonene i tradisjonell bruken av *Pterospermum acerifolium* Willd. har en vitenskapelig støtte.

Gjennom studiene ble det funnet at planten blant annet har en antimikrobiell og antiinflammatorisk effekt. Disse to effektene kan være grunnen til at planten ble tradisjonelt brukt mot forskjellige hudsykdommer. Indikasjonene som diabetes, øreverk, desinfeksjonsmiddel og abdominale smerter har også fått en vitenskapelig bekreftelse som følge av resultatene.

Blant de resterende indikasjonene som avføringsmiddel og behandling av svulster må det gjennomføre vitenskapelige studier før disse indikasjonene kan bekreftes. Behandling av svulster er et område som det bør forskes mer på, siden svulster kan føre til sykdommer som kan være dødelige.

4) Kjemiske strukturer

Foreløpig ikke tilgjengelig.

Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. R.Kirtikar, L.-C. K., Basu, M. B. D., and S., A. I. C.: *Indian Medicinal Plants*. bind 1, 2. opplag, Lalit Mohan Basu, India, 1935, s. 374-375.
3. Ukjent: *Pterospermum acerifolium* Willd. The Wealth of India; a dictionary of Indian raw materials & industrial products. Council of Scientific & Industrial Research, 1948-1976. **8**, 308-310.
4. Shilpa, V.: *Pterospermum acerifolium*. Centre of Minor Forest Products News, 2001. **11**(1), 13.
5. Chatterjee, P. M. A. and Pakrashi, D. S. C.: *The Treatise On Indian Medicinal Plants*. bind 3, Publications & Information Directorate, New Delhi 1994, s. 16-18.
6. Kala, C. P.: *Ethnomedicinal botany of the Apatani in the Eastern Himalayan region of India*. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 2005. **1**, 11.
7. Thatoi, H. N., Panda, S. K., Rath, S. K., and Dutta, S. K.: *Antimicrobial activity and ethnomedicinal uses of some medicinal plants from Similipal Biosphere Reserve, Orissa*. Asian Journal of Plant Sciences, 2008. **7**(3), 260-267.
8. Ukjent: *eFloras*.
URL:http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=610&taxon_id=200013822, 13.03.08
9. Tandon, S. P., Tiwari, K. P., and Saxena, V. K.: *Chemical Study of the Seed of Pterospermum acerifolium*. Proceedings of the National Academy of Sciences India Section a-Physical Sciences, 1970. **40**, 229-231.
10. Tandon, S. P., Saxena, V. K., and Tiwari, K. P.: *Chemical Examination of the Plant Pterospermum acerifolium - Study of the Seed Oil*. Proceedings of the National Academy of Sciences India Section a-Physical Sciences, 1969. **39**, 57-59.
11. Varshney, S. C. and Gupta, P. C.: *Chemical examination of the flowers of Pterospermum acerifolium wild*. Indian Science Congress Association Proceedings, 1972. **59**(Part 3), 139.
12. Mamun, M. I. R., Nahar, N., Mosihuzzaman, M., and Andersson, R.: *Constituents of Pterospermum acerifolium Willd. leaves and bark*. Journal of the Bangladesh Chemical Society, 2002. **15**(1), 91-95.
13. Gunasegaran, R. and Subramanian, S. S.: *Flavonoids of Three Pterospermum Species*. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 1979. **41**(2), 72-73.
14. Mamun, M. I. R., Nahar, N., Mosihuzzaman, M., and Andersson, R.: *Flavonoids, lignan and their glycosides from Pterospermum acerifolium Willd*. Dhaka University Journal of Science, 2003. **51**(2), 209-212.
15. Rizvi, S. A. I. and Sultana, T.: *Phytochemical studies of the flowers of Pterospermum acerifolium*. Phytochemistry, 1972. **11**(2), 856-858.
16. Tandon, S. P., Tiwari, K. P., and Saxena, V. K.: *Amino acid content of the trunk bark of Pterospermum acerifolium*. Proceedings of the National Academy of Sciences India Section a-Physical Sciences, 1970. **40**, 217-218.

17. Selim, M. A., El-Askary, H. I., Sanad, O. A., Ahmed, M. N., and Sleem, A. A.: *Phytochemical and pharmacological study of Pterospermum acerifolium Willd. growing in Egypt*. Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University), 2006. **44**(3), 119-126.
18. Kharpate, S., Vadnerkar, G., Deepti, J., and Jain, S.: *Evaluation of hepatoprotective activity of ethanol extract of Pterospermum acerifolium stem leaves*. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2007. **69**(6), 850-852.
19. Murshed, S., Rokeya, B., Ali, L., Nahar, N., Khan, A. K. A., and Mosihuzzaman, M.: *Chronic effect of Pterospermum acerifolium bark on glycemic and lipidemic status of type 2 diabetic model rats*. Diabetes Research and Clinical Practice, 2000. **50**(Suppl. 1), S224.

Referanse til foto av treet

Ukjent: Coalition for Excellence in Tropical Biology.

URL: http://bio.fiu.edu/trees/sp_pages/Pterospermum_acerifolium.html 06.05.09

***Sapindus mukorossi* Gaertn.**



***Sapindus mukorossi* Gaertn.**

Familie: Sapindaceae.

Botanisk navn: *Sapindus mukorossi* Gaertn.

Burmesisk navn: Magyi-bauk. [1]

Sanskrit: Phenila, urista, arista. [2, 3]

Hindi: Ritha, reetha, aritha, dodan, kanmar og thali. [3]

Bengal: Ritha, Chhota-ritha. [2, 3]

Oriya: Ita.

Punjab: Reetha.

Simla: Keeltha.

Lushai: Hlingsi. [3]

Engelsk: Soap-nut tree of North India. [2]

Assam: Haithaguti. [4]

Aktiv del av planten: Frukten og frøet.

Tradisjonell bruk i Burma

Planten ble brukt i forbindelser med hudsykdommer. [1]

Tradisjonell bruk i India

Planten ble brukt i behandling av epilepsi, ved overprodusering av spytt, anemi, brukt som fiskegift og ved tannrâte. Planten ble også brukt som vaskemiddel til å vaske klær og sjampo til hår. Indiske gullsmid brukte frukten til å gjenopprette klarheten hos misfargete ornamenter. [3]

Tradisjonell bruk i Tehrathum Distriktet, Øst Nepal

Planten ble brukt i behandling av epilepsi og overprodusering av spytt. [5]

Tradisjonell brukt i Nagaland, India

Frukten ble knust og brukt som middel mot kløe ved fot og tå infeksjon. Den ble også brukt som sjampo og vaskemiddel. [6]

Fakta om treet

Sapindus mukorossi Gaertn. er et løvfellende tre som finnes i Kina, Japan, India, på Himalaya fra Himachal Pradesh og østover og i Assam. *Sapindus mukorossi* Gaertn. har en høyde på rundt 18

meter og en bredde på 1,8 meter. Trærne har ikke blader fra perioden desember-januar til mars-april. De første blomstene dukker opp rundt mai-juni måned og fruktene vil modnes i løpet av oktober-november. Fruktene vil bli værende på treet fram til januar. Treet krever dyp, veldrenert jord for å kunne utvikle optimal. Treet trives best i områder med nedbørsmengde på omtrent 175 cm. I områder med lav nedbørsmengde krever treet fuktighet og kulde. [3]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

1.1 *Chemical studies on Sapindus mukorossi seed kernel cake* [7]

Kjerne fra frøet av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble funnet til å inneholde to forskjellige globulin proteiner A og B, som ble isolert ved pH 4,8 og pH 4,0.

Framgangsmåte

Plantematerial

Frøen fra *Sapindus mukorossi* Gaertn.

Eksperiment

Analysen av protein ble utført ved å skille proteinene fra ikke-protein komponenter i cellemassen. Løsningsmidler som ble brukt til å ekstrahere de forskjellige protein typene var 70 % etylalkohol, destillert vann, 10 % natriumkloridløsning og 0,4 % natriumhydroksidløsning.

Isolering av ren globuliner

Kjernen ble ekstrahert tre ganger ved å riste den med varm 10 % natriumkloridløsning (5 ml løsning for hvert gram av kjerne). Det kombinerte ekstraktet ble klargjort ved sentrifugering og det klare filtratet fikk pH 4,8 ved å bruke N/20 eddiksyre og fortynnet med vann til det dukket opp en svak uklarhet. Bunnfallet som oppstod ble betegnet som Mukorossi globulin-A. Filtratet som ble fremstilt etter at protein-A ble fjernet fra Mukorossi globulin-A ble forsuret til pH 4,0, og bunnfallet ble betegnet som Mukorossi globulin-B.

Identifisering av proteinene

Identifisering av proteinene ble utført ved hjelp av tynnsjikt-kromatografi og papir kromatografi.

Resultat

Mukorossi globulin-A	Mukorossi globulin-B
Aspartic acid	Aspartic acid
Glutamic acid	Glutamic acid
Serine	Serine
Glycine	Glycine
Arginine	Arginine
Alanine	Alanine
Valine	Valine
Leucine-Isoleucine	Leucine-Isoleucine
Proline	Proline
Tryptophan	Tryptophan
4 ukjente prikker	

1.2 Determination of saponins in medical plants [8]

Det ble brukt en spektrofotometrisk metode som bruker natrium lauryl sulfat (SLS) som en standard. Metoden er basert på hemolyse prinsippet. Andel saponin ble bestemt ved å måle mengde oxyhaemoglobin frigjort ved 575 nm som fulgte Beers lov i et konsentrasjons område av 9-20 µg/ml.

Framgangsmåte

Instrument

En spektrofotometer ble brukt for å måle absorpsjonen.

Blod reagens

Røde blodceller (RBC) ble isolert fra nylig EDTA-stabilisert albino rotteblod (Wistar strain) ved å vaske den tre ganger med isotonisk saltløsning, fortynnet med fosfat-bufferet saltløsning og justert til $3,2 \times 10^5$ celler/ml.

Standard kurve

En standardløsning ble forbered ved å løse 100 mg av SLS (sodium lauryl sulphate) i 100 ml av 0,9 % w/v saltløsning. En bestemt mengde av SLS i saltløsning ble overført til en 10 ml volumetrisk kolbe, og 2 ml av RBC suspensjonen ble tilsatt. Etter 30 minutter ble absorbansen målt ved 540 nm og 575 nm.

Plantematerial

Prøven med *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble forbered ved å ekstrahere 1 mg av rå legemiddelpulver i 20 ml destillert vann. Ekstraksjonen ble utført fire ganger, hvor hver gang var på 15 minutter. Til slutt ble volumet fylt opp til 100 ml. Videre ble en alikvot tatt ut fra prøven og fortynnet med 1,8 % w/v saltløsning for å gjøre den isoton. Prøven ble etter hvert fortynnet med 0,9 % w/v saltløsning til et kalkulert volum. Et duplikat på 8 ml ble forbered fra prøven og 2 ml av RBC suspensjonen til tilsatt. Absorbansen ble målt i spektrofotometeret etter 30 minutter, akkurat som nevnt ovenfor. Alle bestemmelser ble utført på tre eksemplarer med samme prøveløsning.

Resultat

Plante	Konsentrasjon av Saponin (% w/v)	
	SLS	Standard Saponin
<i>Sapindus mukorossi</i> Gaertn. (Ritha)	14.72 ±0.058	10.86±0.058

Verdien er et gjennomsnitt av tre bestemmelser ± standard avvik

1.3 Two new Tirucallane-Type Triterpenoid Saponins from *Sapindus mukorossi* [9]

Framgangsmåte

Plantematerial

Røttene av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble hentet fra Yuxi distriktet i Yunnan provinsen i Kina. Dette skjedde i 1998.

Syre hydrolyse av forbindelsene 1 og 2

Glukose, rhamnose og arabinose ble funnet i forbindelse 1, mens glukose, rhamnose ble funnet i forbindelse 2.

Ekstraksjon og isolering

Røttene (5.9 kg) ble ekstrahert med varm EtOH fire ganger og så konsentrert under redusert trykk. Det konsentrerte ekstraktet ble delt opp mellom n-BuOH og vann. Laget med n-BuOH ble

kjørt gjennom DM101 kolonne kromatografi som eluerte trinnvis med vann og 80 % EtOH. Videre ble 80 % EtOH fraksjonen kromatografert flere ganger ved å bruke Si gel kolonne kromatografi med CHCl₃:MeOH (8:2 eller 9:1 v/v) og Rp-18 kolonne kromatografi med vandig EtOH eller MeOH for å gi forbindelsene 1 (165 mg) og 2 (132 mg).

Resultat

Forbindelsen 1 er et triterpenoid glykosid med navnet Sapimukoside A og strukturen ble bestemt til å være 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-21,23R-epoxyl tirucall-7, 24R-diene-3 β , 21-diol.

Forbindelsen 2 fikk navnet Sapimukoside B og strukturen ble foreslått til å være 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-21, 23R-epoxyl tirucall-7, 24R-diene-3 β , 21-diol.

1.4 Lipid components from the seeds of *Sapindus mukorossi* L [10]

Framgangsmåte

Plantematerial

Fruktene som ble brukt var samlet inn fra Rawalpindi distriktet av provinsen Punjab i Pakistan. Fruktskallet ble fjernet for hånd.

Ekstraksjon, klassifering og bestemmelse av fettsyrer komposisjon

Frø lipidene ble ekstrahert med en blanding av kloroform og metanol som beskrevet i prosedyren av (Folch *et al.* 1957).

Lipidene ble fraksjonert i forskjellige klasser ved hjelp av TLC. Fettsyrer komposisjonen av det totale lipidet og lipid klassene ble bestemt ved hjelp av GC, en prosedyre som er beskrevet i (Akhtar *et al.* 1988) a & b, (Akhtar *et al.* 1994).

Komposisjon av hydrokarboner fraksjonen

Hydrokarboner ble separert ved hjelp av gass kromatografi. GC ble gjort på en Shimadzu 9-A modell instrument. Nitrogen ble brukt til å frakte gassen gjennom kolonnen.

Resultat

Vektprosent av lipid fraksjoner av oljen fra frøet av <i>Sapindus mukorossi</i> L.	
Lipid fraksjon	Prosent
Nøytrale lipider	67.60
Polare lipider	32.40
Fraksjoner av nøytrale lipider	
Hydrokarboner	5.70
Triglyserider	39.80
Frie fettsyrer	4.30
1, 2-Diglyserider	6.40
1, 3-Diglyserider	5.60
1-Monoglyserider	3.20
2-Monoglyserider	2.60
Fraksjoner av polare lipider	
Glykolipider	18.10
Fosfolipider	14.30

Fettsyre komposisjonen av totale lipider og lipid fraksjoner unntatt hydrokarboner viste at frø lipidene bestod av mye umettet fettsyrer. De umettet fettsyrene som var tilstedet var oljesyre, linolsyre, linolensyre og eikosensyre.

(Sengupta *et al.* 1975, 1982) fraksjonerte oljen fra *Sapindus mukorossi* frøet i to fraksjoner, A og B. Fraksjon A ble funnet til å inneholde normale glyserider, palmitinsyre, stearinsyre, arachidinsyre, oljesyre, linolsyre, linolensyre, eikosensyre og andre fettsyrer i mindre mengde. Fraksjon B bestod av nitrogenholdig konstituenten cyanolipid og fettsyrene palmitinsyre, stearinsyre, arachidinsyre, behensyre, oljesyre, linolsyre, eikosensyre, dokonsensyre og to uidentifiserte syrer.

Fraksjonen av nøytrale lipider ble også analysert for hydrokarboner ved hjelp av GC. Den inneholdt bare mettet n-alkaner i en serie av C₁₄ til C₃₅. Hoved komponentene var pentacosan (C₂₅H₅₂) med 11.75 % og hentriacontan (C₃₄H₆₄) med 17.20 %.

1.5 Studies on the chemical composition of *Sapindus mukorossi* Gaertn. [11]

Framgangsmåte

Fruktene fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble lufttørket og fruktskallet og frøet ble skilt fra hverandre. Frøene ble knust i en knusemaskin. Kjernen ble separert fra resten av massen og oppbevart i en lufttett beholder. Videre ble kjernen kjørt gjennom diverse kjemiske analyser for å skaffe informasjon om de forskjellige bestanddelene kjernen består av. Det ble bestemt løselighet i petroleter, kaldt vann og alkohol. Det ble bestemt proteinandel, total karbohydrater, pentosan, stivelse og rå fibre innhold.

Olje fra kjernen

Kjernen av frøet ble ekstrahert med petroleter i et Soxhlet apparat. Avkastning på oljen var på 35.93 %. Fysikalsk-kjemiske egenskaper av oljen ble bestemt ved hjelp av standard metoder beskrevet av (Karnic *et al.* 1971). Oljen ble behandlet med fortynnet alkaliløsning for å fjerne frie syrer. Den raffinerte oljen ble også analysert for sine fysikalsk-kjemiske egenskaper.

Frie syrer

Frie syrer som kom fra alkalisering av oljen ble først regenerert ved forsuring og ekstrahert med eter. Deretter ble oljen gjenstand for papir kromatografi, her ble det brukt disse løsningsmidlene:

- n-Butanol mettet med 1.5 N NH_4OH .
- 95 % etanol:Cone NH_4OH (100:2).
- Butanol:Etanol 3.0 N vandig NH_4OH (40: 10:50).

Deteksjon av flekkene ble gjort ved å spraye med bromofenol blå, bromotymol blå løsning.

Videre ble oljen undersøkt og andel av umettet og mettet syrer ble bestemt. Andel umettet syrer var på 59.0 % og mettet syrer var på 40.0 %.

Resultat

Nr	Analysepunkter	% uttrykt på fuktighetsfri grunnlag
1	Løselighet i petrol (rå olje)	35.93
2	Løselighet i vann	18.05
3	Løselighet i alkohol	5.26
4	Protein (N x 6.25)	31.87
5	Aske	5.19
	K ₂ O	1.14
	P ₂ O ₅	2.93
	Silika	1.04
6	Total karbohydrater (ikke cellulose)	14.86
7	Pentosaner	2.21
8	Stivelse	11.94
9	Rå fiber innhold	14.14

Fra mettet syrer ble det funnet palmitinsyre, stearinsyre, arachidinsyre, behensyre (spor) og lignoserinsyre (spor).

Fra umettet syrer ble det funnet oljesyre.

Tilnærmet analyser viser at ”soapnut” frøkjerner er en god kilde for olje og protein.

1.6 Glyseride composition of *Sapindus mukorossi* (Soapnut) oil [12]**Framgangsmåte**

”Soapnut” oljen ble ekstrahert fra knuste kjerner fra frøene med petroleter (60-80 grader) i et Soxhlet apparat. Frie fettsyrer fra oljen ble fjernet ved hjelp av mild alkali behandling. 10 mg av ren olje ble ladet i en silisiumsyre kolonne og eluert med 500 ml av benzen, benzen-kloroform og kloroform. Dette ble gjort for å separere triglyserider, diglyserider og monoglyserider fra hverandre.

- Benzen fraksjon: 91,9 % (triglyserider)
- Benzen-kloroform (1:1): 1.4 % (diglyserider)
- Kloroform fraksjon: 0.6 % (monoglyserider)

Videre ble benzen fraksjonen gjenstand for tynnsjikt kromatografi på silika gel-G plate. Her ble det oppdaget tre fraksjoner som ble kalt B₁, B₂ og B₃. Disse fraksjonene ble videre forsåpet, og deres innhold av syrer ble identifisert ved hjelp av omvendt fase papir kromatografi. Her ble det brukt eddiksyre, maursyre og hydrogenperoksid (9:1:1) som løsningsmiddel på en Whatman

No.1 filter papir behandlet med 10 % løsning av flytende parafin i benzen. Referanse prøver av fettsyrer ble brukt for å identifisere ukjente syrer.

- B₁: arachidinsyre, palmitinsyre og oljesyre
- B₂: arachidinsyre og oljesyre
- B₃: arachidinsyre, stearinsyre, palmitinsyre og oljesyre

Resultat

Det ble vist under studien at ”soapnut” oljen består hovedsaklig av triglyserider (92 %).

Mengden av mono- og diglyserider var så lite at det ikke ble studert. De tre triglyseridene som ble separert ved hjelp av kolonne kromatografi er identifisert som oleo-palmitoarachidin (30 %), oleo-diarachidin (13.3 %) og di-olein glyseridene dioleo-palmitin, dioleo-stearin og dioleo-arachidin (56.7 %)

1.7 Chemical constituents of *Sapindus mukorossi* Gaertn. (*Sapindaceae*) [13]

Framgangsmåte

Fruktskallet til *Sapindus mukorossi* (6 kg) ble separert fra frøene, knust og ekstrahert tre ganger i heksan. Heksanekstraktet ble konsentrert under redusert trykk. Rå heksan residuum (25 g) ble gjenstand for kolonne kromatografi med løsningsmiddelblandingene heksan, heksan: kloroform, kloroform, kloroform: metanol og ren metanol.

Fraksjonene som ble eluert med heksan: kloroform (9:1) ble kromatografert flere ganger, og det gav en blanding av tetrasykliske triterpenoidal ester. Alkalin hydrolyse av blandingen gav en enkelt tetrasyklisk triterpen og en blanding av fettsyrer, som ble identifisert ved hjelp av GC-MS etter metylering med diazometan. Totalt ble det oppdaget seks fettsyrer.

Det ble også oppdaget en syvende forbindelse ved hjelp av HPLC analyse av rå fraksjoner eluert med kloroform: metanol (3:1) fra silika gel kolonne.

Resultat

Det ble oppdaget syv forbindelser totalt, hvor seks av dem var fettsyrer. Ved hjelp av omfattende spektroskopiske teknikker og kjemiske verktøyer ble de kjemiske strukturene deres belyst.

Forbindelse	Navn	Kjemis struktur
1	Tetradecanoate	Eupha, 7, 24-diene-3-tetradecanoate
2	Pentadecanoate	Eupha 7, 24-dien-3-pentadecanoate
3	Hexadecanoate	Eupha 7, 24-dien-3-hexadecanoate
4	Heptadecanoate	Eupha 7, 24-dien-3-heptadecanoate
5	Nonadecanoate	Eupha 7, 24-dien-3-nonadecanoate
6	Heneicosanoate	Eupha 7, 24-diene-heneicosanoate
7		1, 12-bis-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl (3 \rightarrow 1)- α -L-rhamnopyranosyl all- <i>trans</i> farnesol

1.8 Two triterpenoidal saponins from *Sapindus mukorossi* Gaertn. [14]**Framgangsmåte****Plantematerial**

Fruktene fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. (6 kg) ble kjøpt fra den lokale markedsplassen.

Fruktskallet ble separert fra frøene og knust i en homogenisator. Materialet ble først ekstrahert med heksan i 15 dager og så metanol i 15 dager. Metanolekstraktet ble fordampet under redusert trykk for å gi et gummiaktig residuum. Residuet ble delt mellom en etylacetat fase og en vannfase. Begge lagene ble separert og det vandige laget ble videre ekstrahert med n-butanol.

Butanollaget ble fordampet under redusert trykk og gav 325 g med rå ekstrakt, som ble gjenstand for kolonne kromatografi på silika gel kolonne. Løsningsmiddelblandinger som ble brukt hadde en økende polaritet og disse var kloroform, kloroform: metanol, metanol og metanol: vann.

Fraksjonene eluert med kloroform: metanol (8:2) fra silika gel kolonne ladet med butanol løselige fraksjon av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble blandet på grunnlaget av lik TLC profiler og funnet til å være en blanding med flere saponiner. Blandingen ble videre gjenstand for flash kromatografi. Fraksjonene oppstått med kloroform: metanol (9:1) fra flash kolonnen ble blandet og videre rensset ved HPLC med metanol: vann (24:1) som mobilfase. På denne måten ble en blanding av to saponiner (2 og 3) til. Saponinene kunne ikke separeres ved hjelp av HPLC, og for å skille dem fra hverandre måtte andelen av sukker bestemmes.

Resultat

I forbindelse 2 ble det oppdaget sukkene arabinose, arabinose og rhamnose. I forbindelsen 3 ble det oppdaget arabinose, xylose og rhamnose.

De to forbindelsene som ble oppdaget hadde strukturene 3-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-(3 \rightarrow 1)- α -L-rhamnopyranosyl]-hederagenin og 3-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranosyl-(3 \rightarrow 1)- α -L-rhamnopyranosyl]-hederagenin.

Fra før av har det blitt oppdaget forbindelsen 1 som et aglykon.

1.9 *Galactomannan from the seeds of Sapindus mukorossi* [15]

Framgangsmåte

Plantematerial

Fruktene av *Sapindus mukorossi* ble skaffet fra Camphor and Allied Products, Calcutta, India.

Ekstraksjon og isolering

Frøene ble oppløst og fettsyrer ble fjernet ved å ekstrahere med $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ og CCl_4 . Polysakkaridet ble ekstrahert med 1 % eddiksyre og isolert ved å helle den klare løsningen i etanol og så renses.

Hydrolyse av polysakkaridet

1 g av polysakkaridet ble hydrolysert med 50 ml av 1.5 N H_2SO_4 i 28 timer, deretter ble hydrolysatet nøytralisert med BaCO_3 og konsentrert til en sirup.

Papir kromatografi

Monosakkaridene i polysakkaridet ble identifisert ved hjelp av papir kromatografi på Whatman No. 1 papir. Løsningsmiddelblandingene som ble brukt var $\text{BuOH}:\text{AcOH}:\text{H}_2\text{O}$ (4:1:5) og $\text{BuOH}:\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$ (4:1:5). Spray reagensen var anilin hydrogen ftalat.

Resultat

Et nøytral polysakkarid har blitt isolert og inneholder galaktose (R_f 0,16) og D-mannose (R_f 0,19). De to sukkerene ble funnet i en molar forhold av 1: 2.2 som et resultat av volumetrisk analyse og av GLC data. Polysakkaridet ble karakterisert som galaktomannan på grunnlag av kjemisk og spektroskopiske undersøkelser.

1.10 *Physico-Chemical Properties of Monodesmoside Saponins of Sapindaceae (Sapindus mukorossi Gaertn) at Air/Water and Oil/Water Interfaces* [16]

Overflate aktivitet, emulsjon stabilitet og skummevnen for to typer av monodesmosid saponiner av *Sapindus mukorossi* Gaertn (I og II) ble undersøkt. Samtidig ble også zeta potensialer for emulsjoner forberedt av disse saponinene i vann/kerosene systemet undersøkt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Sapindaceae saponiner (I og II) ble renset fra rå sapindaceae saponin pulver som inneholder omtrent 20 % saponin.

Pulveret ble gjenstand for kolonne kromatografi på silika gel ved å bruke CHCl_3 -MeOH- H_2O (6:2:1 v/v, underste lag) for å få fraksjonen med forbindelsene I og II. Disse ble oppdaget ved hjelp av TLC. Fraksjonen ble separert ved gjentatte ganger med kolonne kromatografi på silika ved å bruke $\text{CH}_3\text{COOCH}_2$ - CH_3 -EtOH- H_2O (14:2:1).

Til sammenligning av resultatene ble soyasaponin I (SI) som var renset fra rå soyabønne saponin pulver brukt.

Vandige prøver av løsningene av I, II og SI ble forberedt ved nøytralisering av den syrlige suspensjonen med en vandig NaOH (0,01 M) løsning. pHene til prøveløsningene var rundt 7.5 ± 0.2 .

Måling av overflate aktivitet

Overflate aktiviteten av saponin løsningene og grenseflate spenningen mellom kerosene og saponin løsningen ble målt med en Wilhelmy grenseflate spenningsmåler (CVBP A-3: Kyowa Kaimen Kagaku Co., Ltd., Tokyo). Dette ble gjort med en glassplate ved 25 ± 0.1 grader.

Skummevnen ble estimert ved hjelp av en spesifikk volum av skum påført av kraftig røring (15000 rpm, 2 minutter) for hver saponin løsning. Skum stabilitet ble målt ved forandring av spesifikk skumvolum over tid.

En serie av O/W emulsjoner ble skaffet ved å røre en blanding av saponin løsning og kerosene. Gjennomsnitts dråpe diameter av emulsjonen ble bestemt ved hjelp av optisk mikrofotografi med en bilde analyser (Luzex III-U, Nireco Co., Ltd., Tokyo). Metoden fulgte det som ble beskrevet av (Yamano *et al.* 1984). Skumme hastigheten ble bestemt ved å måle vann separasjonen av emulsjonen ved 25 ± 0.2 grader med en bilde analyser.

Zeta potensialet av emulsjonens dråper

Zeta potensialet til hver finfordelt dråpe i emulsjonen ble bestemt ved hjelp av et elektroforetisk lys sprednings spektrofotometer ved 25 ± 0.1 grader.

Resultat

Forbindelsene I og II ble identifisert på grunnlag av ^{13}C nukleær magnetisk resonans spekter. Metoden er beskrevet av (Kimata *et al.*, 1983). Forbindelsen I var α -L-arabinopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside av hedragenin og forbindelsen II var α -L-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside av hedragenin. Det var ikke noen forskjell i overflate aktivitet, skummevnen, emulsjons stabilitet eller zeta potensial av emulsjonens dråper mellom de to typer saponiner (I og II) av sapindaceae.

Overflate aktiviteten, emulsjons stabilitet og skummeevnen av både I og II var høyere enn av soyasaponin I (SI).

Zeta potensialet av emulsjonens dråper laget med I og II var lavere enn de som var laget med SI. Vann separasjonen i både I og II emulsjoner var større enn i SI emulsjonen og det var lite forskjell mellom separasjonen i I og II emulsjoner. Dette viser at skumme stabiliteten av I og II var lavere enn for SI.

1.11 Chemistry of Saponins: Part I- Saponin of *Sapindus mukorossi* Gaertn. [17]

Framgangsmåte

Tørket fruktskall ble varmet opp med vann (3 x 2 liter) i seks timer på et vannbad. Det rødaktige ekstraktet var konsentrert til 1,5 liter ved 50 grader, under redusert trykk. Fast ammoniakk sulfat (250 g) ble tilsatt med kraftig agitasjon, når en blek brun slimete masse fløt på overflaten.

Væsken ble helt ut og saponinen tritureert med nylig laget, mettet løsning av ammoniakk sulfat (3 x 200 ml), da ble det skilt ut et blek brun fast stoff. Det ble filtrert og løst i vann og den ovennevnte prosessen ble gjennomført tre ganger før saponinen som et brun formløs fast stoff ble til. Videre ble stoffet kromatografert med kolonne kromatografi eluert med metanol.

Hydrolyse av saponinen

Ren saponin ble hydrolysert med metanolisert svovelsyre under reflux i seks timer.

Løsningsmiddelet ble fjernet under redusert trykk og vann ble tilsatt når et fargeløs fast stoff ble skilt ut. Stoffet ble filtrert, vasket med vann og rekrystallisert fra metanol som et fargeløs prisme.

Identifikasjon av sukker i hydrolysatet

Filtratet ble ekstrahert med eter (3 x 10 ml) og nøytralisert med BaCO₃. Videre ble filtratet filtrert og konsentrert til 5 ml ved 50 grader, under redusert trykk. Filtratet ble kjørt gjennom kokromatografi med autentiske sukker.

Resultat

Skallet av fruktene til *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble funnet til å inneholde en saponin, mukorosside (C₅₂H₈₄O₁₁ x 2H₂O). Den ble isolert som et krystallaktig produkt fra varmt vandig ekstrakt.

Gjennom hydrolyse med svovelsyre gav saponinen hederagenin, D-glukose, D-xylose, L-arabinose og L-rhamannose.

1.12 Molluscicidal Saponins from *Sapindus mukorossi*, Inhibitory Agents of Golden Apple Snails, *Pomacea canaliculata* [18]

I denne studien ble det isolert en ny hederagenin basert, acetylt saponin. Fra før av er det blitt isolert seks hederagenin saponiner. ((Kojima *et al.* 1998), (Nakayama *et al.* 1986), (Kanchanapoom *et al.* 2001) og (Jayasinghe *et al.* 1995))

Framgangsmåte

Plantematerial

Pulveret av fruktskallet til *Sapindus mukorossi* Gaertn ble skaffet fra Dharani Forestry and Orchards Limited administrativ kontor i Guntur i India.

Ekstraksjon og isolering

Pulveret av fruktskallet til *Sapindus mukorossi* Gaertn ble suspendert i MeOH i 72 timer. Deretter ble det filtrert og konsentrert under redusert trykk for å gi et MeOH ekstrakt. Ekstraktet ble videre kjørt gjennom kolonne kromatografi som gav den bioaktive fraksjonen. Videre ble den bioaktive fraksjonen opphav til de forskjellige forbindelsene.

Resultat

Forbindelse 1: Hederagenin 3-*O*-(2,4-*O*-di-acetyl- α -L-arabinopyranoside)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside. Denne forbindelsen er den nyeste forbindelse som ble isolert

Forbindelse 2: Hederagenin 3-*O*-(3,4-*O*-di-acetyl- α -L-arabinopyranoside)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Forbindelse 3: Hederagenin 3-*O*-(3-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside. (1)

Forbindelse 4: Hederagenin 3-*O*-(4-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Forbindelse 5: Hederagenin 3-*O*-(3,4-*O*-di-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Forbindelse 6: Hederagenin 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Forbindelse 7: Hederagenin 3-*O*- α -L-arabinopyranoside. (2)

Forbindelsene 2-7 ble identifisert som kjente saponiner ved hjelp av analyse av deres spektroskopi informasjon og sammenligning med litteraturen.

1.13 Tirucallane-Type Triterpenoid Saponins from the Roots of *Sapindus mukorossi* [19]

I denne studien ble det isolert seks nye tirucallan triterpenoid saponiner, sapimukosider E-J, fra røttene til *Sapindus mukorossi* Gaertn.

Framgangsmåte

Plantematerial

Røttene av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble hentet inn fra Yuxi, Yunnan provins av Kina i 1998.

Ekstraksjon og isolering

Lufttørket røtter ble ekstrahert med varm EtOH fire ganger og deretter konsentrert under redusert trykk. Konsentrasjonen ble videre delt opp i to deler n-BuOH og H₂O. Delen med n-BuOH ble kjørt gjennom kolonne kromatografi eluert trinnvis med vann og 80 % EtOH. 80 % EtOH fraksjonen ble videre brukt i silika gel kolonne kromatografi med CHCl₃-MeOH som gav opphav til forbindelsene.

Resultat

Navn: Sapimukosid E (3)

Struktur: 3-*O*- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-21,23R-epoxyl tirucalla-7,24-diene-21 β -ethoxy-3 β -ol.

Navn: Sapimukosid F (4)

Struktur: 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-21,23R-epoxyl tirucalla-7,24-diene-21 β -ethoxy-3 β -ol.

Navn: Sapimukosid G (5)

Struktur: 3-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-21,23R-epoxyl tirucalla-7,24-diene-21 β -methoxy-3 β -ol.

Navn: Sapimukosid H (6)

Struktur: 3-*O*- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-21,23R-epoxyl tirucalla-7,24-diene-21 β -ethoxy-3 β -ol.

Navn: Sapimukosid I (7)

Struktur: 3-*O*- α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-21,23R-epoxyl tirucalla-7,24-diene-21 β -methoxy-3 β -ol.

Navn: Sapimukosid J (8)

Struktur: 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-21,23R-epoxyl tirucalla-7,24-diene-21 β -ethoxyl-3 β -ol.

1.14 *Anti-platelet Aggregation Triterpene Saponins from the Galls of Sapindus mukorossi* [20]

Undersøkelsen av et etanolekstrakt av galler av *Sapindus mukorossi* Gaertn. har ført til isolering av to nye tirucallan triterpenoid saponiner.

Framgangsmåte

Plantematerial

Gallene fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble samlet inn fra Taipei i oktober 2001.

Ekstraksjon og isolering

Tørket galler ble utsatt for reflux med 95 % EtOH tre ganger totalt. Etter konsentreringen i vakuum ble EtOH ekstraktet dannet og delt opp i to deler, CHCl₃ og H₂O. CHCl₃ delen ble videre delt opp ved hjelp av MeOH/n-heksan blanding i to nye deler, MeOH og n-heksan. Etter at MeOH var dampet vekk i vakuum, ble residuet som ble dannet kromatografert over silika gel kolonne som eluerte med CHCl₃-MeOH. Dette gav 13 fraksjoner som gav de to nye forbindelsene.

Resultat

Navn: Sapinmusaponin Q (9)

Struktur: 21 α -methoxy-3 β ,21(*R*),23(*S*)-epoxytirucall-7,24-diene-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin R (10)

Struktur: 21 α -methoxy-3 β ,21(*R*),23(*S*)-epoxytirucall-7,24-diene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

1.15 *New Dammarane-Type Saponins from the Galls of Sapindus mukorossi* [21]

Fem nye dammaran saponiner ble isolert fra galler av *Sapindus mukorossi* Gaertn.

Framgangsmåte

Plantematerial

Gallene fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble samlet in fra Taipei på Taiwan i oktober 2001.

Ekstraksjon og isolering

Tørket galler ble ekstrahert tre ganger med etanol. Etanolekstraktet ble dannet ved å fjerne løsningsmiddelet i vakuum. Etanolekstraktet ble videre delt opp i to, en CHCl₃ del og en H₂O del. CHCl₃ ble deretter også delt opp i to deler, en metanol del og en n-heksan del. Etter fordampingen av metanol ble residuet rensset ved hjelp av kromatografi på silika gel kolonne. Dette gav opphav til de nye forbindelsene.

Resultat

Navn: Sapinmusaponin A. (11)

Struktur: 3 β ,7 β ,20(*S*),22-Tetrahydroxydammar-24-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin B. (12)

Struktur: 3 β ,7 β ,20(*S*),22,23-Pentahydroxydammar-24-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin C. (13)

Struktur: 3 β ,7 β ,20(*S*),22,25-Pentahydroxydammar-23-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin D. (14)

Struktur: 25-Methoxy-3 β ,7 β ,20(*S*),22-tetrahydroxydammar-23-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin E. (15)

Struktur: 25-Methoxy-3 β ,7 β ,20(*R*),22-trihydroxydammar-23-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

Sammen med disse forbindelsene ble det også isolert tre kjente fenylpropanoid glykosider.

Strukturene til alle disse forbindelsene ble utarbeidet ved hjelp av spektroskopiske analyser og kjemiske metoder.

1.16 Acyclic sesquiterpene oligoglycosides from pericarps of *Sapindus mukorossi* [22]

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet som ble brukt ble skaffet fra en markeds plass i Japan.

Ekstraksjon

Fettet fra fruktskallet av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble først fjernet ved hjelp av ekstraksjon med varm C₆H₆. Videre ble residuet som ble dannet ekstrahert med MeOH. Etter at løsningsmiddelet var fjernet ved fordamping, ble MeOH ekstraktet kromatografert på en polymer med høy porøsitet. Dette resulterte med en ikke-saponin glykosid fraksjon. Denne fraksjonen ble først kromatografert på silanisert silika gel og videre på silika gel for å gi de nye forbindelsene.

Resultat

Det ble isolert fire nye forbindelser fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. Disse fire overflateaktive sesquiterpen oligoglykosider ble kalt mukurozioside Ia (16), mukurozioside Ib (17), mukurozioside IIa (18) og mukurozioside IIb (19).

1.17 Triterpenoid saponins from the fruits and galls of *Sapindus mukorossi* [23]

Framgangsmåte

Plantematerial

Frukten ble samlet inn fra Tainan på Taiwan i 2004, og gallene ble samlet inn fra fjellene i Taipei som ligger i nord Taiwan i oktober 2001.

Ekstraksjon og isolering

Tørket frukt ble ekstrahert med EtOH (20 l x 3). Så ble etanolekstraktet ekstrahert trinnvis med n-heksan, CHCl₃ og n-BuOH. Etter fordampingen av CHCl₃ løsningsmiddelet, ble residuet trinnvis kjørt gjennom kolonne kromatografi på silika gel, Diaion HP-20 og Sephadex LH-20. Deretter ble det separert ved hjelp av HPLC for å gi forbindelsene 1-4 (Sapinmusaponin K-N) og syv andre saponiner som er blitt isolert fra før av, og derfor ikke omtalt her. Gallene fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble behandlet på samme måte som fruktene, og fra etanolekstraktet av gallene ble det isolert to nye forbindelser, Sapinmusaponin O og Sapinmusaponin P.

Resultat

Seks saponiner er isolert fra *Sapindus mukorossi* Gaertn.

Navn: Sapinmusaponin K (20)

Struktur: Hederagenin-3-*O*-(3-*O*-acetyl- α -L-arabinopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin L (21)

Struktur: Hederagenin-3-*O*-(4-*O*-acetyl- α -L-arabinopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin M (22)

Struktur: Hederagenin-3-*O*-(2,3-*O*-diacetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin N (23)

Struktur: Hederagenin-3-*O*-(2,4-*O*-diacetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin O (24)

Struktur: 3,7,20(*S*)-trihydroxydammar-24-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

Navn: Sapinmusaponin P (25)

Struktur: 3,7,20(*R*)-trihydroxydammar-24-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside.

De syv kjente saponinene som også var isolert fra frukten og av denne planten er omtalt av (Huang *et al.* 2003), (Nakayama *et al.* 1986) og (Waller and Yamasaki, 1996).

1.18 *New tirucallane-type triterpenoid saponins from Sapindus mukorossi* Gaertn. [24]

Framgangsmåte

Plantematerial

Røttene til *Sapindus mukorossi* ble samlet inn fra Yuxi, Yunnan provinsen i Kina.

Ekstraksjon og isolering

Røttene ble ekstrahert med varm EtOH fire ganger, deretter konsentrert under redusert trykk. Videre ble ekstraktet delt opp i to deler mellom n-BuOH og vann. N-BuOH delen ble kjørt gjennom DM 101 kolonne kromatografi som eluerte trinnvis med vann og 80 % EtOH. Videre ble fraksjonen med 80 % EtOH gjentatte ganger kjørt gjennom silika gel kolonne kromatografi med CHCl₃-MeOH (8:2 eller 9:1 v/v) og Rp-18 kolonne kromatografi med vandig EtOH for å gi forbindelsene Sapimukoside C og Sapimukoside D.

Resultat

Navn: Sapimukoside C (26 (I))

Struktur: 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(21,23*R*)-epoxyl-tirucalla-7, 24-diene-(21*S*)-ethoxyl-3 β -ol.

Navn: Sapimukoside D (26 (II))

Struktur: 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(21,23R)-epoxyl-tirucalla-7, 24-diene-(21S)-methoxyl-3 β -ol.

2) Biologiske studier

2.1 *Effect of plant extracts on methanogenesis microbial profile of the rumen of buffalo: brief overview* [25]

Planter som er rike på sekundære metabolitter (saponiner, tanniner, essensielle oljer, etc.) har antimikrobiell aktivitet som kan utnyttes til selektiv inhibering av en spesiell gruppe av mikrober i rumen. I dette studiet ble *Sapindus mukorossi* Gaertn. testet for sine effekter mot metanutslipp og ciliat protozoer i rumen til bøffelen.

Framgangsmåte

Plantedelene ble tørket ved 60 grader, riflet slik at de kan passere gjennom en 1 mm sil og ekstrahert med tre løsningsmidler. Løsningsmidlene som ble brukt var etanol (95/100 ml), metanol (98/100 ml) og vann. Screening av planteekstraktene ble gjort ved hjelp av *in vitro* gas produksjons test i følge (Menke and Steingass, 1988).

In vitro eksperimenter er ment som en preliminær screening av et stort antall av planteekstrakter, for så å plukke ut noen ekstrakter som kan være nyttige til videre undersøkelse. De utvalgte planteekstraktene er foreslått til videre evaluering av *in vivo* effekter på metanutslippet.

Resultat

Sapindus mukorossi Gaertn. som inneholder saponiner var en av 14 planter som viste effekt mot metanutslippet. Samtidig viste også planten tegn til inhibering av ciliat protozoer i væsken som kommer fra rumen til bøffelen. Etanolekstraktet av *Sapindus mukorossi* Gaertn. hadde sterkere inhiberende effekt enn metanolekstraktet og vannekstraktet. Antiprotozoer effekten av saponiner oppstår på grunn av binding av saponin til kolesterol i cellemembranen til protozoer, som fører til celle oppløsning. (Cheeke 2000).

Inhibering av metanutslipp (%)

Etanolekstrakt	Metanolekstrakt	Vannekstrakt
95.80	20.18	39.40

2.2 Determination of *Xenopus* index and haemolytic index in fruits of *Sapindus mukorossi* Gaertn. (*Sapindaceae*) and seeds of *Entada scandens* Benth. (*Mimosaceae*) [26]

Framgangsmåte

Bestemmelse av *Xenopus* indeks

Hensikten med undersøkelsen var å finne legemiddelkonsentrasjonen som førte til at gjennomsnitts dødstiden for *Xenopus* larve var på en time. Denne konsentrasjonen ble kalt time-konsentrasjonen. *Xenopus* indeksen er så definert som mengde vann i gram som et gram rå legemiddel eller ren saponin må fortynnes i for å ha denne konsentrasjonen.

Plantematerial

Grov pulver av legemidlene ble brukt til ekstraktet. Til testene ble det brukt kloridfri vann.

Ekstraksjonen ble utført på kokende vannbad.

Tre deler av frukten av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble testet. Frukten ble delt i fruktskall, skall fra frøet og kjernen fra frøet.

Bestemmelse av hemolyse indeks

Eksperimentet ble utført etter metoden beskrevet av (Büchi, Hippenmeyer og Dolder 1955).

Natriumcitrat løsningen og fosfat buffer ble laget etter metoden beskrevet av (Sandberg 1948).

De samme delene av frukten ble brukt her. Blodet som ble brukt i undersøkelsen kom fra en sau.

Resultat

Bestemmelse av *Xenopus* indeks

Time-konsentrasjonen med en 5 % ekstrakt med fruktskall lå mellom 0,1 og 0,01 %.

Undersøkelsen med en ekstrakt på 0,1 % gav en time-konsentrasjon mellom 0.03 og 0.02 %.

Undersøkelse med skallet fra frøet viste at larven overlevde mellom en til to timer i en ekstrakt på 5 %. Dette indikerer at det ikke var noen saponin effekt.

Undersøkelsen med kjernen fra frøet viste at larven ikke ble skadet i en 5 % ekstrakt. Dette viser at det var ingen tegn til saponin effekt.

Bestemmelse av hemolyse indeks

0,08 mg av ren saponin produserte full hemolyse i 2 ml av 1 % blodsuspensjon. Dette gav en haemolyse indeks på omtrent 25,000.

0,3 mg av fruktskallet produserte en full hemolyse i 2 ml av 1 % blodsuspensjon. Dette gav en haemolyse indeks (HI) på omtrent 7,000.

10 % ekstrakt av skallet fra frøet og kjernen fra frøet gav ingen haemolyse. Dette indikerer at det ikke ble funnet noen saponin effekt.

2.3 Application of saponins in foods and cosmetics: Saponins of Mohave Yucca and *Sapindus mukorossi* [27]

Antidermatofytose

Saponiner av hederagenin (monodesmosider og tilsvarende bidesmosider) som er isolert fra fruktskallet til *Sapindus mukorossi* Gaertn. (Kimata *et al.* 1983) og acyclic sesquiterpen oligoglykosider (mukurozioside Ia, Ib, Iia og Iib) (Kasai *et al.* (1986) som også er isolert fra fruktskallet til *Sapindus mukorossi* Gaertn. har vist å inneholde antidermatofytose egenskap. Alle monodesmosidene viste sterk vekstinhiberende effekt. Aktivitetene til sapindoside A er nesten like sterk som griseofulvin, et velkjent middel mot soppinfeksjon. Griseofulvin viste ikke hemmende effekt mot *Candida albicans*, mens disse monodesmosidene viste signifikant hemmende effekt.

Denne egenskapen ble undersøkt hos *Trichophyton rubrum* blant forskjellige oleanane saponiner. Og det ble vist at for å ha denne egenskapen er det nødvendig med visse funksjonelle grupper på strukturformelen. Fri 28-COOH, 23-OH og 3-O-glycosyl grupper er nødvendige for denne inhiberende effekten.

Antimikrobiell aktivitet

Framgangsmåte

Metanolekstraktet av planten ble undersøkt ved hjelp av kromatografi på Diaion HP-20. Sesquiterpen oligoglykosider og andre vannløselige innholdsstoffer ble fjernet ved hjelp av eluering med vann og så 50 % MeOH. Saponin fraksjonen ble fremstilt ved hjelp av eluering med 70 % og 80 % MeOH.

Saponin fraksjonen viste moderate antibakteriell effekt mot Gram-positive bakterier, mens ingen effekt ble oppdaget mot Gram-negative bakterier. Saponin fraksjonen hadde en vektshekkende effekt mot *Pichia nakazawae*, *Debaryomyces hansenii*, *Hansenula anomala* og *Malassezia furfur*.

Effekten av saponin fraksjonen mot vanlig sopp var ikke så sterk, mens den viste veldig god effekt mot følgende dermatofytosiske sopp og sykdomsfremkallende gjærsopp, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Sabouraudites canis*, *Epidermophyton floccosum* og *Candida albicans*.

2.4 Anti-inflammatory Activities of Hederagenin and Crude Saponin isolated from *Sapindus mukorossi* Gaertn [28]

I denne studien ble det gjort undersøkelse av antiinflammatoriske effekter av rå saponin og hederagenin isolert fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. Dette ble utført ved hjelp av carrageenin induisert ødem i baklabbene til rotte, i rottens granulom pung (granuloma pouch) og adjuvant artritt i rotter.

Framgangsmåte

Test agens

Hederagenin, rå saponin fra *Sapindus mukorossi* Gaertn, rå platycodin, platycodigenin, saikogenin A og oleanolsyre

Carrageenin induisert ødem

Hunnkjønn Wistar rotter som veide mellom 150 og 170 g ble brukt. Volumet av bakre labbene til rottene ble målt etter metoden som er beskrevet av (Van Arman *et al.* 1965). Etter behandling av carrageenin, ble volumet av labben bestemt etter hver time i fem timer totalt. Økning i volum ble sett som økning i ødemet. Stoffet som skal testes ble administrert *i.p.* eller *p.o.* 30 eller 60 minutter før behandling med carrageenin.

Graulom pung i rotter

Granulom pung ble induisert i hunnkjønn Wistar rotter som veide mellom 110 og 150 g. Prosedyren fulgte metoden som er beskrevet av (Robert and Nejamis 1957). Stoffet som ble undersøkt ble administrert *p.o.* en gang daglig i 7 dager. Dyrene ble avlivet på den åttende dag og pungen ble dissekrert.

Adjuvant artritt i rotter

Her ble det brukt metoden beskrevet av (Pearson *et al.* 1961). Adjuvant artritt ble induisert i hunnkjønn Wistar rotter som veide mellom 160 til 200 g. Stoffet som ble undersøkt ble administrert til rottene *p.o.* en gang daglig i 21 dager.

Resultat

Carrageenin induisert ødem

Antiinflammatorisk effekt av hederagenin ble undersøkt med dosene 200 og 400 mg/kg *p.o.*, og 100 og 200 mg/kg *i.p.* Av rå saponin fra *Sapindus mukorossi* ble dosene 200 og 400 mg/kg *p.o.*, og 25 og 50 mg/kg *i.p.* brukt. Resultatet ble sammenlignet med oleanolsyre, saikogenin A, rå platycodin, platycodigenin og phenylbutazone.

Blant stoffene som ble gitt *p.o.* var det rå saponin 400 mg/kg, rå platycodin 200 mg/kg og phenylbutazone 200 mg/kg som viste en signifikant hemmende effekt av ødemet.

Ved administrering via *i.p.* viste hederagenin 100 mg/kg, 200 mg/kg og rå saponin på 25 og 50 mg/kg signifikant hemmende effekt på ødemet. Oleanolsyre, saikogenin A 100 mg/kg, 200 mg/kg og phenylbutazone 200 mg/kg viste også signifikant hemmende effekt på ødemet.

Graulom pung i rotter

Inhiberende effekt av hederagenin og rå saponin 100 og 200 mg/kg og prednisolon 2,5 mg/kg *p.o.* ble undersøkt.

Hederagenin 100 og 200 mg/kg produserte en svak hemmende effekt. Rå saponin 200 mg/kg viste en signifikant hemmende effekt. Prednisolon 2,5 mg/kg viste også en signifikant hemmende effekt.

Adjuvant artritt i rotter

Hemmende effekt av en 21 dagers administrering av hederagenin 50, 100 og 200 mg/kg, rå saponin 100 og 200 mg/kg, og phenylbutazone 30 mg/kg på ødemet i rottens baklabbe ble undersøkt. Alle dosene ble gitt *p.o.*

Hederagenin 50-200 mg/kg viste en tendens til å utvikle hemmende effekt på ødemet som er doseavhengig. Rå saponin 200 mg/kg viste en signifikant hemmende effekt på ødemet med en gjennomsnitt på 51 % i løpet av de 21 dagene. Phenylbutazone 30 mg/kg viste også en inhiberende effekt.

2.5 Molluscicidal Saponins from *Sapindus mukorossi*, Inhibitory Agents of Golden Apple Snails, *Pomacea canaliculata* [18]

I denne studien ble det isolert sju hederagenin saponiner (nevnt ovenfor, 1.12). I tillegg ble disse forbindelsene også testet for evnen til å drepe mollusker (bløtdyr).

Framgangsmåte

Forbindelsene ble testet på "golden apple snail" *P.canaliculata*. Dyrene ble hentet fra Ping-Tung County i Taiwan juni 2001.

Dyrene ble først gitt ei uke til å venne seg til laboratoriet. Det ble laget seks forskjellige konsentrasjoner av hver test forbindelse, og hver konsentrasjon ble laget i tre eksemplarer. Dyrene ble utsatt for forbindelsene i en krukke dekket med netting av tøy for å hindre dem i å unnsnippe. Kontroll gruppen ble behandlet med vann. Dyrene ble behandlet med forbindelsene etter 24, 48 og 72 timer.

Evnen til å drepe disse bløtdyrene ble også testet med å spraye ekstrakt pulveret sammen med nicosamid, metaldehyd og vann utover en ung risåker. Tjue dyr ble plassert i de forskjellige testområdene før test forbindelsene og kontrollene ble fordelt over området. Antall døde dyr ble beregnet etter 72 timer.

Resultat

Resultatene fra krukke undersøkelsen viste at ekstraktet hadde LC₅₀-verdier på 85, 22 og 17 ppm etter 24, 48 og 72 timer. Dette viser at ekstraktet har en effekt som er tidsavhengig.

Resultatene fra risåker undersøkelsen viste at ekstrakt pulveret hadde en dødelighet på 62 %, mens niclosamid og metaldehyd hadde 85 % og 40 %.

Undersøkelsene viste også at ved en konsentrasjon på 10 ppm hadde forbindelsene 2-5 100 % dødelighet, 1 og 6 90 % dødelighet og 7 70 % dødelighet. Dette ble kalkulert etter 24 timer hos *P. canaliculata*.

Studien viste at saponiner fra *Sapindus mukorossi* Gaertn., både isolerte forbindelser og rå ekstrakt hadde en drepende effekt på *P. canaliculata*.

2.6 Anti-platelet Aggregation Triterpene Saponins from the Galls of *Sapindus mukorossi* [20]

Som nevnt ovenfor (1.14) er det blitt isolert to nye tirucallan triterpenoid saponiner. Disse forbindelsene ble videre undersøkt for sin effekt mot blodplates aggregasjon.

Framgangsmåte

Metoden som ble brukt er beskrevet av (O' Brin 1962) og (Bergmeyer *et al.* 1965).

Resultat

Studien viste at de to nye forbindelsene hadde en IC₅₀-verdi på omtrent 3.4 – 13.5 µM, mens aspirin hadde en IC₅₀-verdi på omtrent 30.5 µM.

Ved å måle prosentandel av LDH (lactate dehydrogenase) lekkasje fra blodplatene, hadde forbindelsene ingen cellegiftighet (LDH < 10.0 %).

Resultatene viste at disse forbindelsene hadde mer potent anti blodplates aggregasjons effekt enn aspirin.

2.7 Antimicrobial activity of *Sapindus mukorossi* and *Rheum emodi* extracts against *H pylori*: In vitro and in vivo studies [29]

I denne studien ble ekstraktet av *Sapindus mukorossi* Gaertn. testet for sin antibakterielle effekt.

Framgangsmåte

Plantematerial

Prøveeksemplar av treet ble skaffet fra M/s Munnalal Dawasas and Co. Hyderabad, Andhra Pradesh, India.

Organismer brukt i studien

Tretti arter av *Helicobacter pylori*, to gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) og to gram negative (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*) bakterier ble brukt i denne studien.

Ekstraksjon

Pulveret av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble trinnvis ekstrahert med petroleter, benzen, kloroform og etanol før den ble konsentrert i vakuum.

In vitro undersøkelse

Til denne undersøkelsen ble det brukt filter papir disk diffusjonsmetoden. Dette ble utført på brucella agarplater supplert med 7 % blod fra sau under mikro-aerobe forhold ved 37 grader.

Forkjellige filter papirer med forskjellige konsentrasjoner av planteekstraktet (10-200 µg/ml) ble plassert i de agarplatene med test organismer. Dette ble gjort for å finne MIC (minimum inhibit concentration) for planteekstraktet. MIC ble regnet ut ved å måle inhiberingssonen av hver konsentrasjon etter inkubering ved 37 grader i 3-5 dager.

***In vivo* undersøkelse**

Hannkjønn Wistar rotter som veide mellom 175-200 g ble brukt til undersøkelsen. Åpen sår ble indusert til rottene etter en metode som er beskrevet av (Okabe og Pfeiffer 1972). I følge metoden ble det gitt eddiksyre (0,5 ml av 80 % v/v) til rottene. Rottene ble videre gitt *H. pylori* peroralt annenhver dag i syv dager.

Til behandling ble det gitt metanolekstrakt av *Sapindus mukorossi* Gaertn. til rottene. Den totale daglig dosen var på 2.5 mg, og rottene fikk dette i syv dager.

For å sjekke effekten av behandlingen ble rottene avlivet (cervical dislocation). Magesekken ble fjernet og fotografert for å bestemme sårets tilstand. Det ble også tatt vevsprøver for å undersøke bakteriell kolonisering.

Resultat

In vitro undersøkelsen ble det funnet at ekstrakten av *Sapindus mukorossi* Gaertn. viste en hemmende effekt på *H. pylori*.

Med en konsentrasjon på 10 µg/ml av etanolekstraktet ble det registrert en inhiberingssone på omtrent 20 mm (MIC). Kloroformekstraktet med samme konsentrasjon gav en sone på 18 mm. Ved en konsentrasjon på 200 µg/ ml ble det dannet en maksimum inhiberingssone som var på 98 mm.

In vivo undersøkelsen viste det at ekstrakt av *Sapindus mukorossi* Gaertn. kunne fjerne *H. pylori* infeksjonen med en konsentrasjon på 2.5 mg/ml.

2.8 Effect of spermicides on *Lactobacillus acidophilus* in vitro- nonoxynol-9 vs *Sapindus saponins* [30]

Saponiner ekstrahert fra fruktskallet til *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble testet for sin bakteriedrepende effekt mot *Lactobacillus acidophilus*.

Framgangsmåte

Lactobacillus acidophilus kolonier ble dyrket på et spesifikk medium (Rogosa SL agar) med forskjellige konsentrasjoner av saponiner og nonoxynol-9. Dette ble gjort under en atmosfære som bestod av 5 % CO₂/ 95 % luft ved 37 grader i 72 timer. Antall og størrelse på koloniene ble telt og sammenlignet med kontroller.

Kontroll

Nonoxynol-9

Resultat

Antall kolonier

Ved MEC (minimum effective concentration) konsentrasjonen av saponiner (0,05 %) overlevde nesten 90 % av koloniene. Og ved en konsentrasjon på 2.5 % overlevde bare 45 % av koloniene. Hos skålene med nonoxynol-9 var den hemmende effekten vesentlig sterkere. Med en konsentrasjon på 0,05 %, overlevde bare 17-18 % av koloniene. Ved høyere konsentrasjoner av nonoxynol-9, greide ingen kolonier av *Lactobacillus acidophilus* å overleve.

Størrelse på kolonier

Hos saponiner ble det påvist en størrelse reduksjon på omtrent 5 % ved konsentrasjonen 0,05 %. Økning i konsentrasjonen førte til en gradvis reduksjon i størrelse. Ved konsentrasjonen på 2.5 %, var den gjennomsnittlige koloni størrelsen redusert med nesten 60 %. Hos nonoxynol-9 ble det påvist en reduksjon på 75 % ved konsentrasjonen 0,05 %.

Studien viste at saponiner fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. er mindre giftig mot *Lactobacillus acidophilus* sammenlignet med nonoxynol-9.

2.9 Synergistic spermicidal activity of neem seed extract, reetha saponins and quinine hydrochloride [31]

Framgangsmåte

Plantematerial

Sapindus saponiner ble ekstrahert i laboratorium fra fruktskallet til *Sapindus mukorossi* Gaertn.

Test for spermdrepende aktivitet

Spermdrepende effekten ble målt ved hjelp av en modifisert versjon av protokollen som var beskrevet av (Sander and Cramer 1941). Protokollen målte en minimums konsentrasjon av et spermdrepende middel som er nødvendig for å drepe 100 % av spermien innen 20 sekunder. 250 µl av løsningen av test middelet med forskjellige fortynningsgrad ble blandet med 50 µl av sperma suspensjon som inneholdt 60 millioner sperma per ml. Blandingen ble observert under mikroskop ved 10X i 20 sekunder og antall levende sperma ble målt. Hvis det var tegn på levende sperma ble denne prøven karakterisert som ikke godkjent. De fortynningene som fikk godkjent på visuell testen ble videre blandet med 250 µl av Baker's buffer og inkubert i en vannbad på 37 grader i minst 60 minutter. Etter inkuberingen ble det igjen sjekket for levende sperma. De konsentrasjonene som viste ingen tegn til levende sperma i begge testene ble bokført som effektive.

Kontroll

Nonoxynol-9

Resultat

Resultatene fra metoden beskrevet av (Sander and Cramer 1941) ble brukt som en indikator for en potent spermdrepende aktivitet av saponiner. Det ble observert at det var nødvendig med en konsentrasjon på 0,05 % av *Sapindus* saponiner for å utøve en 100 % spermdrepende effekt innen 20 sekunder.

En blanding av *Azadirachta indica* ekstrakt, *Sapindus* saponiner og quinin hydroklorid førte til at det trengte en lavere konsentrasjon fra enkelte ingredienser (0,39 % Praneem, 0,015 % *Sapindus* saponin og 0,0012 % quinin hydroklorid) for å oppnå samme effekt. Dette var tegn på at det eksisterte en synergisme effekt blant ingrediensene.

2.10 Hepatoprotective activity of *Sapindus mukorossi* and *Rheum emboides* extracts: In vitro and in vivo studies [32]

Hensikten med studien var å studere leverbeskyttende egenskapen til *Sapindus mukorossi* Gaertn. hos hannkjønn rotter som var behandlet med CCl₄.

Framgangsmåte

Plantematerial

Prøver fra treet ble hentet fra den autoriserte leverandøren M/s Munnalal Dawasas and Co. Hyderabad, Andhra Pradesh, India.

Dyr

Det ble brukt hannkjønn Wistar rotter som veide omtrent 175-200 g. Etter anskaffelse fikk rottene ei uke til å tilpasse seg omgivelsen før eksperimentene startet.

Ekstraksjon, separasjon og rensing av forbindelsene

Prøvene ble bearbeidet slik at de aktuelle forbindelsene ble isolert til bruk i eksperimentene.

Hepatotoksin

I studien ble det brukt CCl₄ (carbon tetrachloride) sammen med flytende parafin til å indusere leverskade hos forsøksdyrene. Dyrene ble gitt 100 µl/kg av CCl₄ peroralt hver dag gjennom hele studien. Kontroll gruppen fikk samme volum av flytende parafin.

In vitro

Leverceller ble isolert ved å bruke en modifisert prosedyre beskrevet av (Kiso *et al.* 1983) Dyrene ble rensert grundig ved å bruke rektifisert alkohol og bedøvet med eter. Disseksjonen ble utført under aseptiske forhold ved å bruke steriliserte utstyrer. Levedyktigheten av hepatocytene ble studert etter 6, 12 og 24 timer. De hepatocytene som greide å tilpasse seg ble observert for veksten deres.

In vivo

Dyrene ble delt opp i fem grupper hvor hver gruppe bestod av seks rotter. Gruppe I ble brukt som kontroll og fikk saltvann. Gruppe II fikk CCl₄ peroralt. Gruppe III ble gitt CCl₄ og 2.5 g/kg ekstrakt av *Sapindus mukorossi* Gaertn peroralt. Gruppe IV fikk CCl₄ og 3.0 g/kg *R.emodi* peroralt. Gruppe V fikk CCl₄ og 50 g/kg *Silymain* peroralt.

Rottene ble avlivet etter at eksperimentet var ferdig og levervevene ble undersøkt for anatomisk forandring under mikroskop.

Resultat

In vitro

Sapindus mukorossi Gaertn. ekstrakt viste en signifikant leverbeskyttende effekt mot skade induisert av CCl₄. Ekstraktet reduserte nivåene av LDH og GPT som ble frigjort fra CCl₄ skadet leverceller.

In vivo

Behandling med *Sapindus mukorossi* Gaertn førte til at forhøyet nivåer av ALT, AST, ALP og bilirubin som kommer av skaden påført av CCl₄, ble senket til normale nivåer.

Utseendet av levercellene var også normale etter behandling av *Sapindus mukorossi* Gaertn. Det var ingen tegn til nekrose, inflammasjon eller andre forandringer som det vanligvis er hos leverceller påvirket av CCl₄.

3) Konklusjon og diskusjon

Sapindus mukorossi Gaertn. er tradisjonell brukt i Burma i forbindelse med hudsykdommer.

I India har *Sapindus mukorossi* Gaertn. blitt brukt i behandling av epilepsi, ved overproduisering av spytt, anemi, som fiskegift og ved tannråte. Planten ble også brukt som vaskemiddel til å vaske klær og sjampo til hår. Indiske gullsmed brukte også frukten til å gjenopprette klarheten hos misfargete ornamenter. Videre ble planten også brukt som middel mot kløe ved fot og tå infeksjon.

I Øst Nepal brukte også befolkningen planten til å behandle epilepsi og hyppig spyttproduksjon.

Studier

Sapindus mukorossi Gaertn. ble testet for sine effekter mot metanutslipp og ciliat protozoer i rumen til bøffelen. Resultatet viste at *Sapindus mukorossi* Gaertn. hadde en inhiberende effekt på metanutslippet og ciliat protozoer. Det var etanolekstraktet av planten som hadde sterkest effekt.

I en annen studie ble det beregnet en *Xenopus* indeks og hemolyse indeks. Forklaring på hva disse er, er nevnt ovenfor. Resultatet fra denne studien viste at saponin har en drepende effekt på

Xenopus larvene. De andre plantedelene som ikke innholdt saponin hadde ingen virkning på *Xenopus* larvene.

Sapindus mukorossi Gaertn. ble også testet for sin antibakterielle og antidermatofytose egenskaper. Det viste seg at forbindelsene som var isolert fra fruktskallet viste sterk veksthemmerende effekt. En av forbindelsene hadde også nesten like sterk effekt som et velkjent middel mot soppinfeksjon, griseofulvin. Samtidig ble det også oppdaget at disse forbindelsene hadde en signifikant effekt mot *Candida albicans*, noe som griseofulvin ikke hadde.

Saponin fraksjonen viste også moderate antibakteriell effekt mot Gram-positive bakterier, mens ingen effekt ble oppdaget mot Gram-negative bakterier. Saponin fraksjonen hadde en veksthemmende effekt mot *Pichia nakazawae*, *Debaryomyces hansenii*, *Hansenula anomala* og *Malassezia furfur*.

Sapindus mukorossi Gaertn. har også blitt testet for sin antiinflammatoriske egenskap. Dette ble utført ved hjelp av carrageenin induisert ødem i baklabbene til rotte, i rottens granulom pung (granuloma pouch) og adjuvant artritt i rotter. Konklusjonen fra denne studien var at forskjellige konsentrasjoner av rå saponin fra *Sapindus mukorossi* viste en signifikant hemmende effekt på testobjektene.

Evnen til å drepe mollusker ble også testet hos *Sapindus mukorossi* Gaertn. Forbindelsene som var isolert fra planten ble testet på "golden apple snail" *P.canaliculata*. Studien viste at saponiner fra *Sapindus mukorossi* Gaertn., både isolerte forbindelser og rå ekstrakt hadde en drepende effekt på *P. canaliculata*.

Isolerte forbindelser fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble i en studie undersøkt for sin effekt mot blodplate aggregasjon. Metoden som ble brukt er beskrevet av (O' Brin 1962) og (Bergmeyer *et al.* 1965). Resultatene viste at disse forbindelsene hadde en mer potent anti blodplate aggregasjons effekt enn aspirin.

Antimikrobiell effekten av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble undersøkt hos *Helicobacter pylori*. Resultatene fra *in vitro* undersøkelsen viste at ekstraktet av *Sapindus mukorossi* Gaertn. viste en hemmende effekt på *H. pylori*. Resultatene fra *in vivo* undersøkelsen viste at ekstrakt av *Sapindus mukorossi* Gaertn. kunne fjerne *H. pylori* infeksjonen med en konsentrasjon på 2.5 mg/ml.

Saponiner ekstrahert fra fruktskallet til *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble også undersøkt for sin bakteriedrepende effekt mot *Lactobacillus acidophilus*. Studien viste at saponiner fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. er mindre giftig mot *Lactobacillus acidophilus* sammenlignet med nonoxynol-9.

I en studie ble spermdrepende effekten av saponin undersøkt. Det ble observert at det var nødvendig med en konsentrasjon på 0,05 % av *Sapindus* saponiner for å utøve en 100 % spermdrepende effekt innen 20 sekunder. Men med en blanding av *Azadirachta indica* ekstrakt,

Sapindus saponiner og quinin hydroklorid trengte det en lavere konsentrasjon fra enkelte ingredienser (0,39 % Praneem, 0,015 % Sapindus saponin og 0,0012 % quinin hydroklorid) for å oppnå samme effekt. Dette var tegn på at det eksisterte en synergisme effekt blant ingrediensene.

Sapindus mukorossi Gaertn. ble også undersøkt for sitt leverbeskyttende egenskap fra skade induisert av CCl₄. Resultatene viste at *Sapindus mukorossi* Gaertn. inneholdt en leverbelyttende egenskap både i *in vitro* og *in vivo* undersøkelser.

På grunnlag av de vitenskapelige studiene som er funnet kan man trolig konkludere med at tradisjonell bruken i Burma (mot hudsykdommer) kan gis en vitenskapelig bekreftelse. Bakgrunnen er de studiene som har undersøkt treet for sitt antibakterielle, antisopp og antiinflammatoriske effekter. Det er et faktum at mange hudsykdommer skyldes bakterier og sopp [33], og siden studiene som er funnet har gitt positive resultater kan man gi denne konklusjonen. At treet også har vist en antiinflammasjon effekt kan også støtte denne konklusjonen, fordi inflammasjon er en tilstand som kan forkommes i forskjellige hudsykdommer.

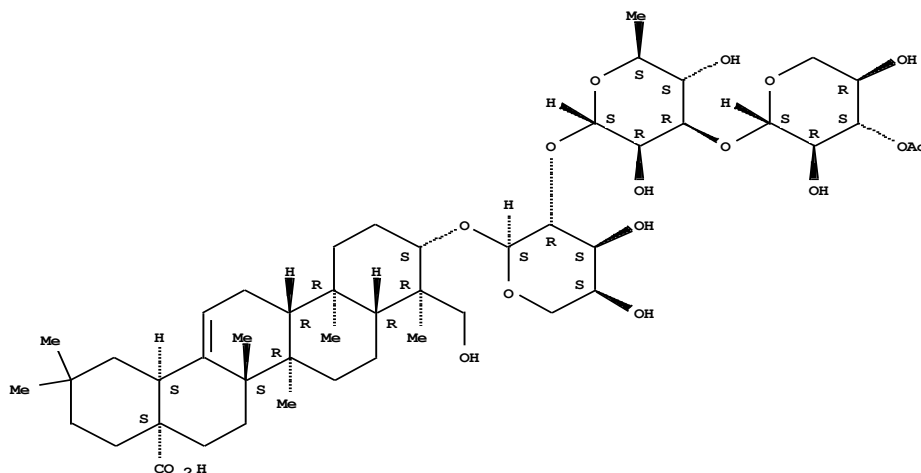
Andre indikasjoner som også kan få vitenskapelig støtte på grunnlag av treets antibakteriell og antisopp effekt, er bruk av plantematerialet som et middel mot kløe ved fot og tå infeksjon og som et middel mot tannrøte.

At ekstraktet av *Sapindus mukorossi* Gaertn. ble brukt som vaskemiddel og sjampo kan også bekreftes på grunnlag av det ble isolert saponiner fra *Sapindus mukorossi* Gaertn. Det tidligere kjent at saponiner har en såpe effekt, noe som gjør at bruken av planten til dette formålet er logisk.

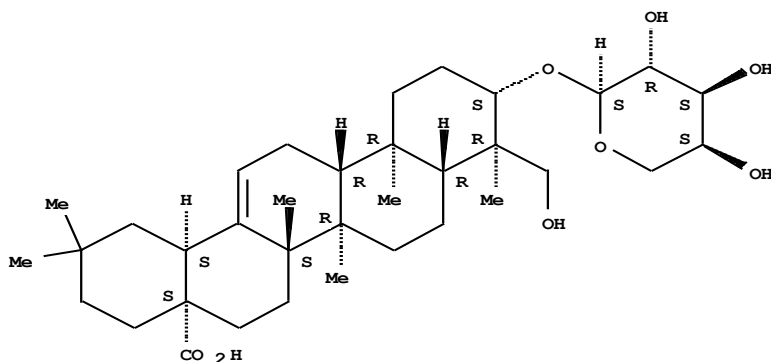
Flere studier må gjennomføres før tradisjonell bruken av *Sapindus mukorossi* Gaertn. kan vitenskapelig bekreftes på de andre nevnte indikasjonene. Dette gjelder blant annet bruk av planten i behandling av epilepsi, anemi og hyppig spyttproduksjon.

4) Kjemiske strukturer

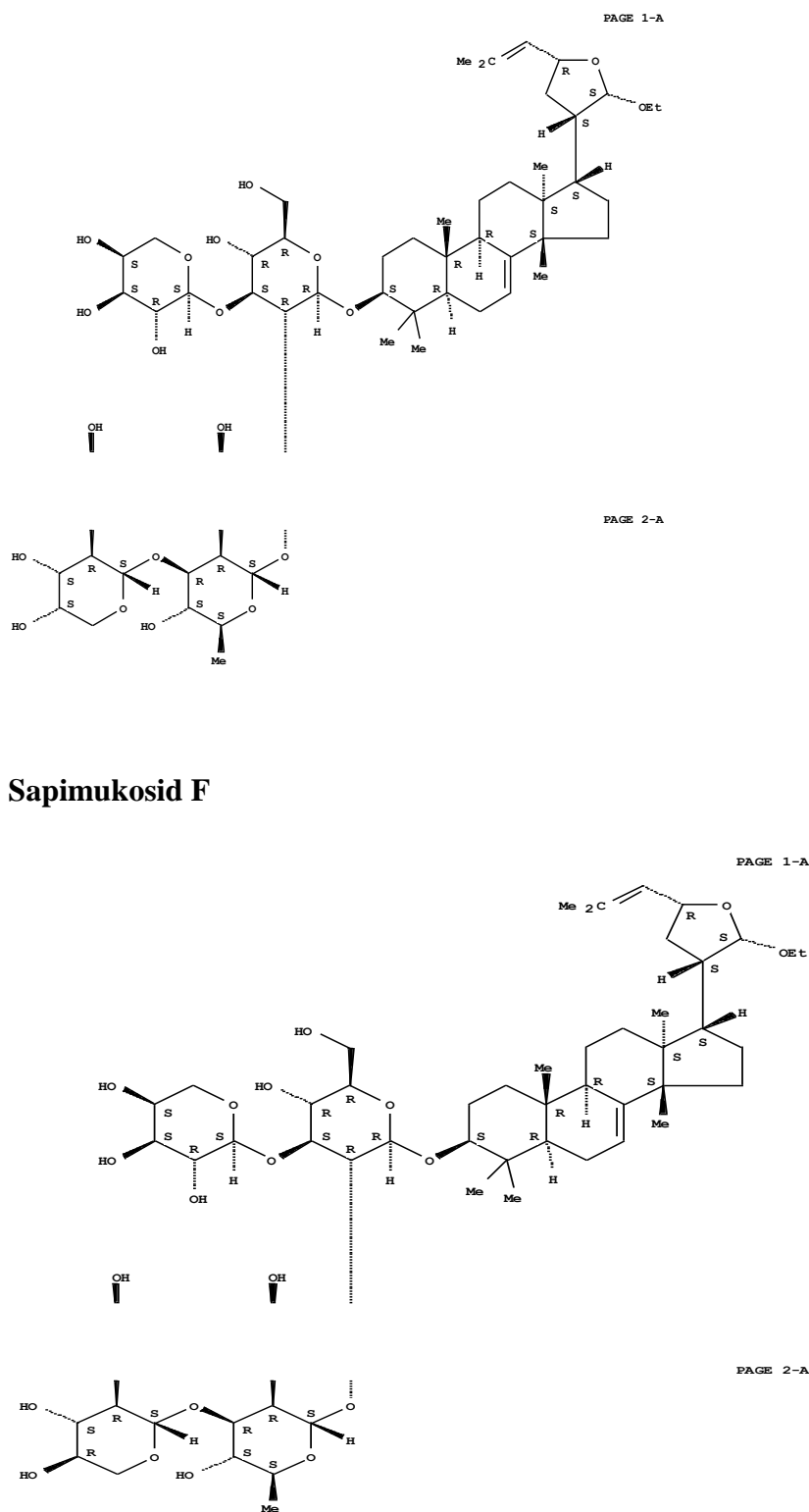
1: Hederagenin 3-O-(3-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.



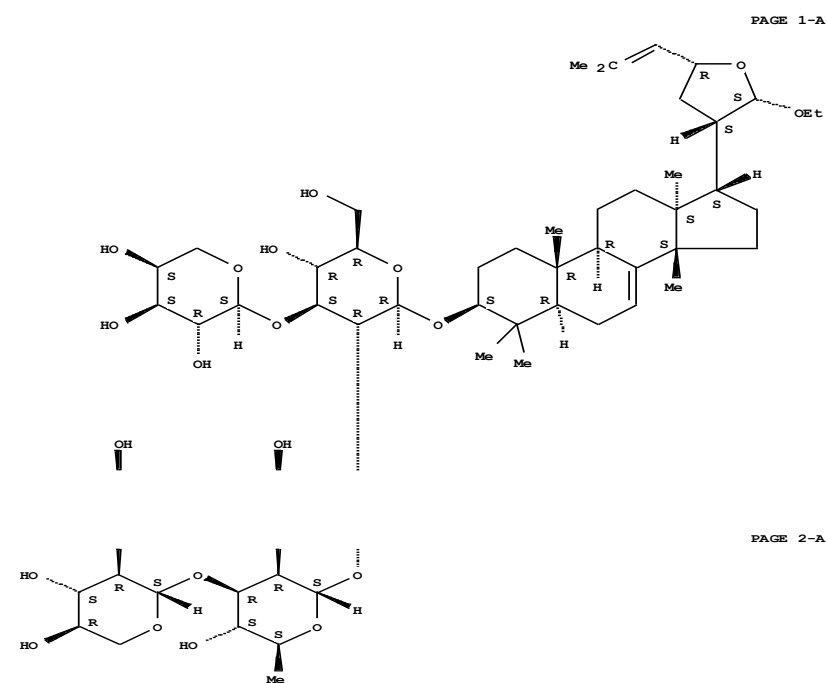
2: Hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside



3: Sapimukosid E

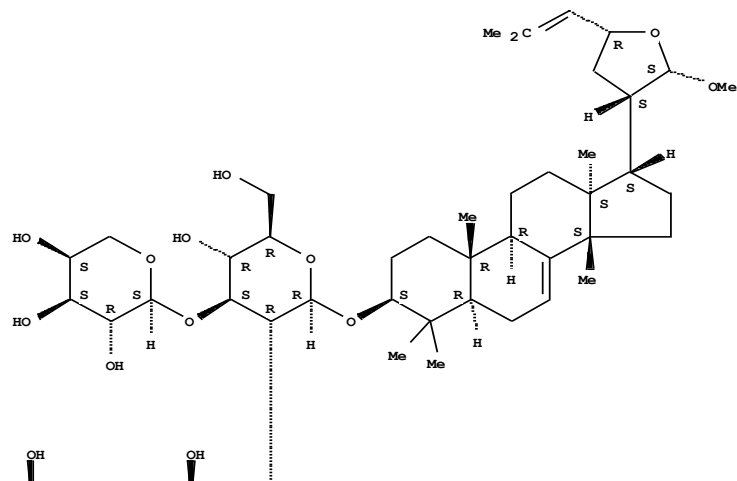


4: Sapimukosid F

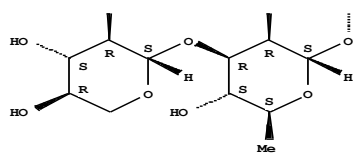


5: Sapimukosid G

PAGE 1-A

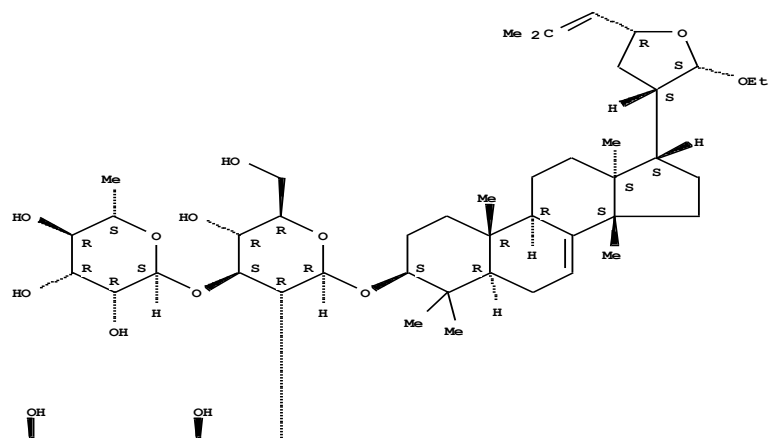


PAGE 2-A

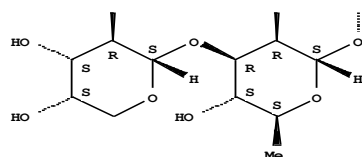


6: Sapimukosid H

PAGE 1-A

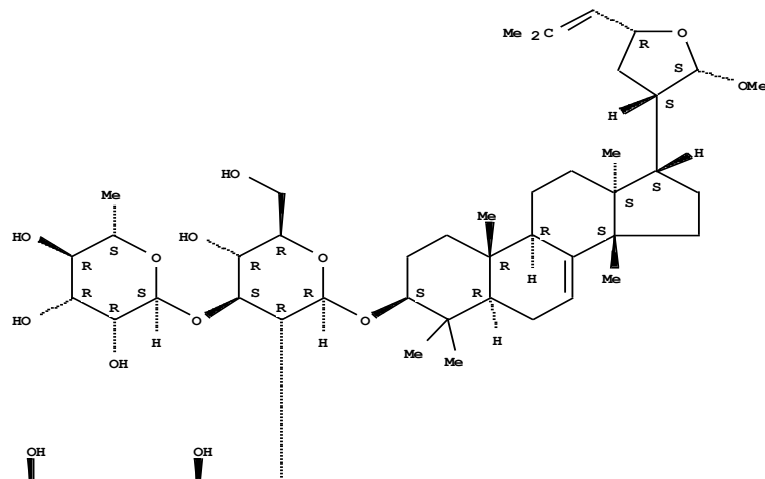


PAGE 2-A

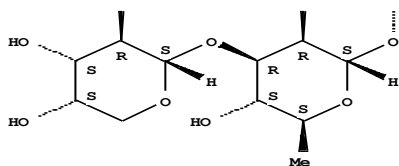


7: Sapimukosid I

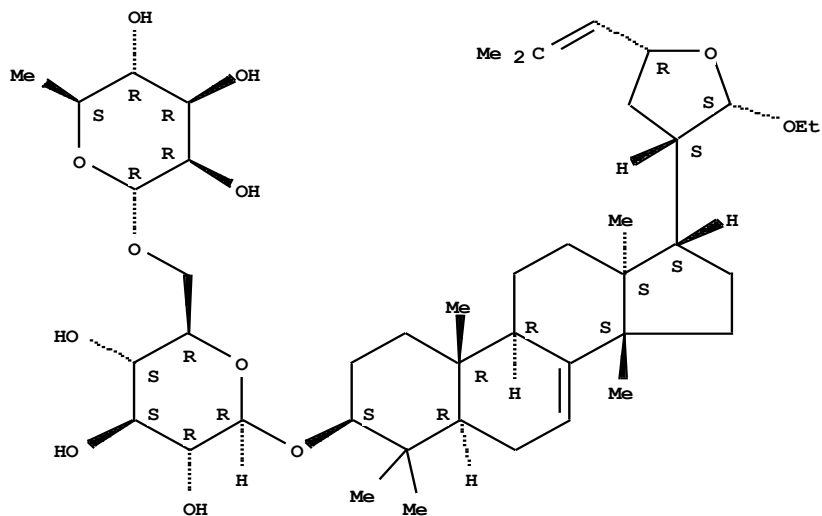
PAGE 1-A



PAGE 2-A

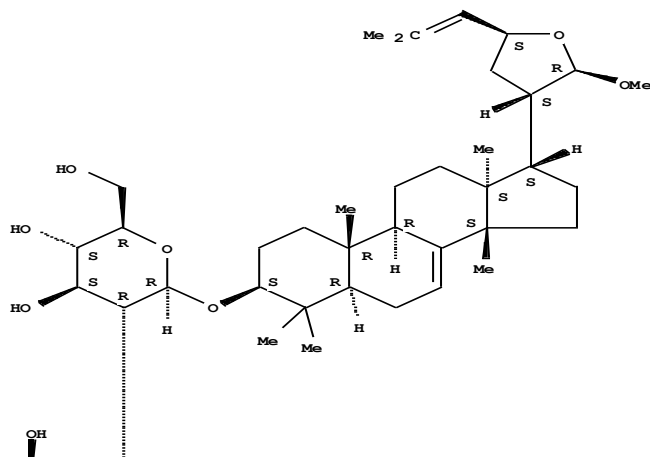


8: Sapimukosid J

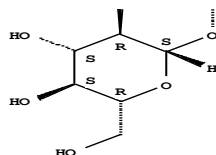


9: Sapinmusaponin Q

PAGE 1-A

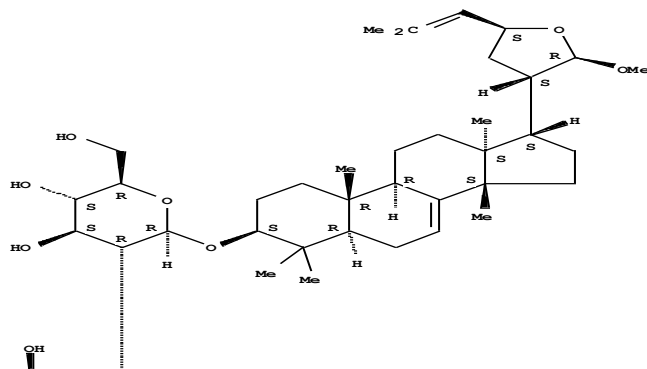


PAGE 2-A

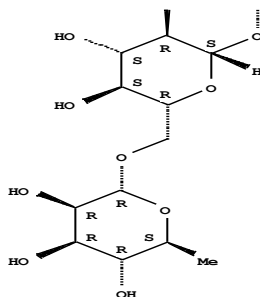


10: Sapinmusaponin R

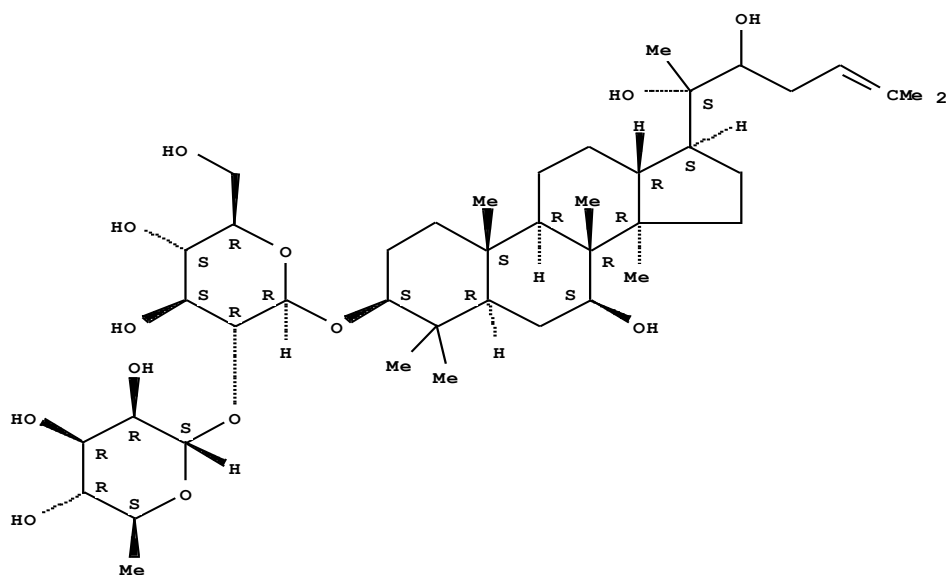
PAGE 1-A



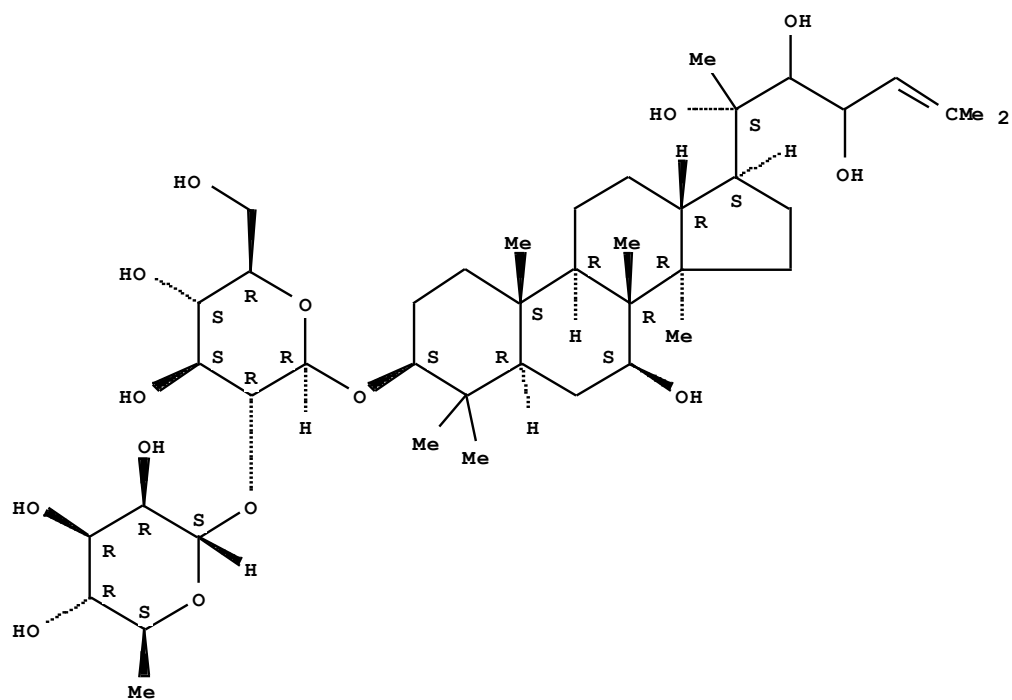
PAGE 2-A



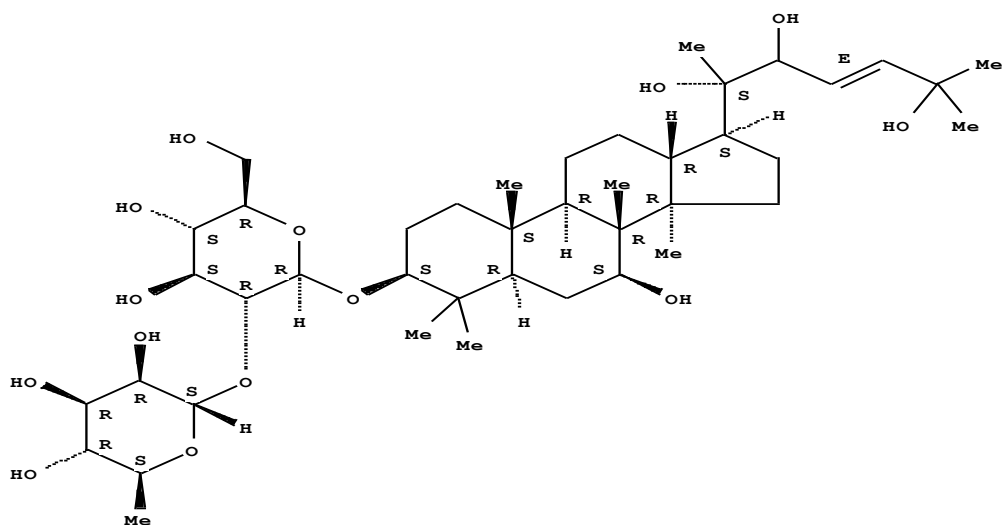
11: Sapinmusaponin A



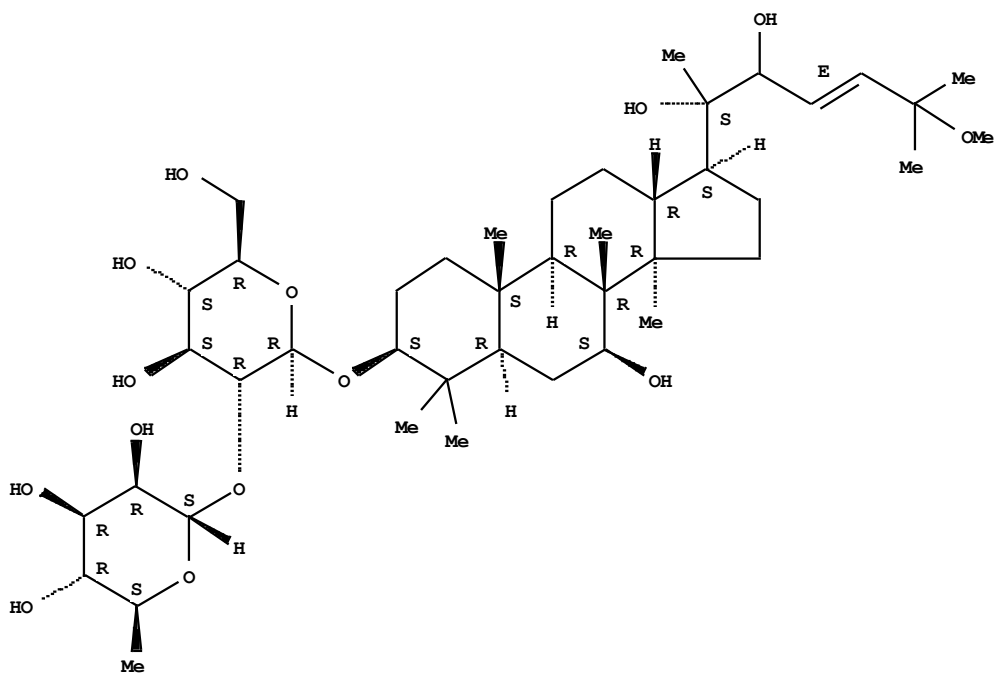
12: Sapinmusaponin B



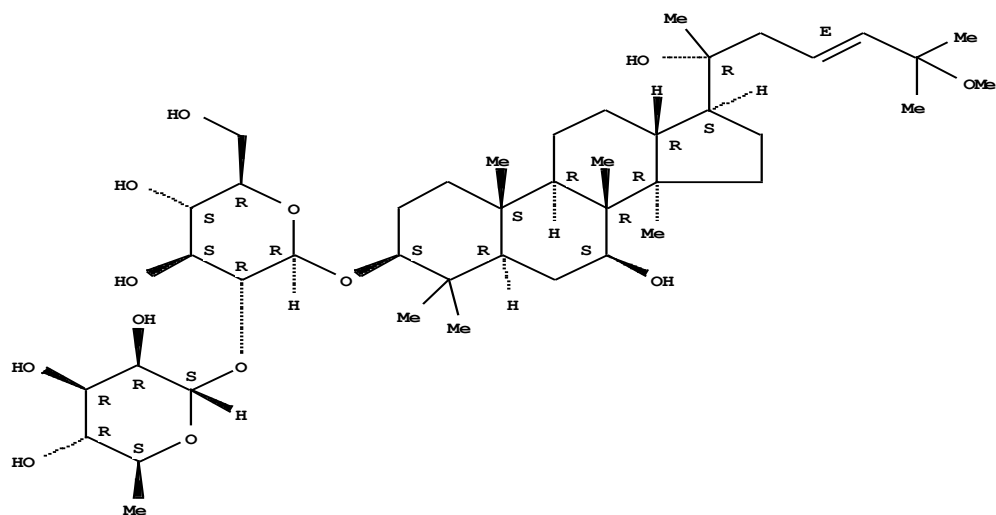
13: Sapinmusaponin C



14: Sapinmusaponin D

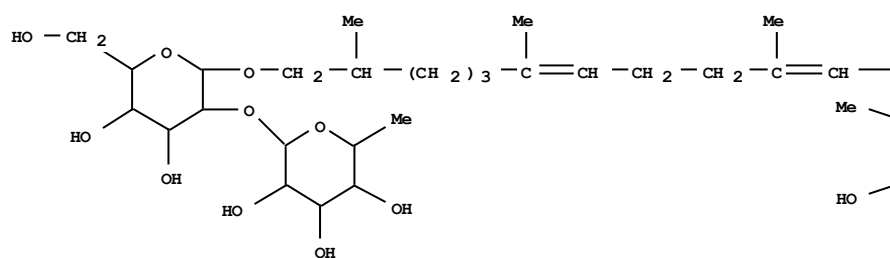


15: Sapinmusaponin E

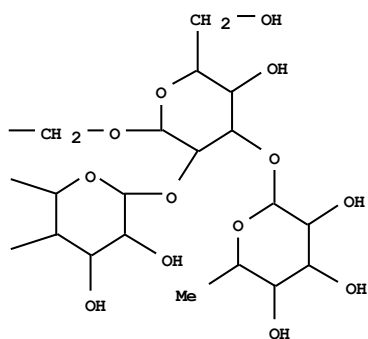


16: Mukurozioside Ia

PAGE 1-A



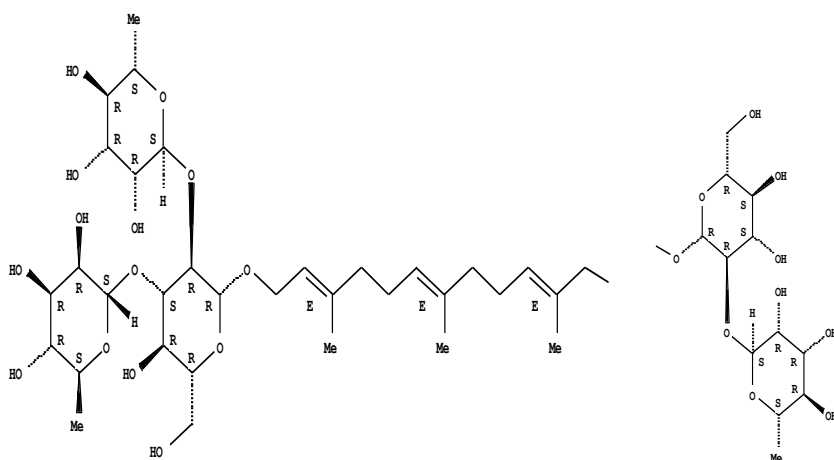
PAGE 1-B



17: Mukurozioside Ib

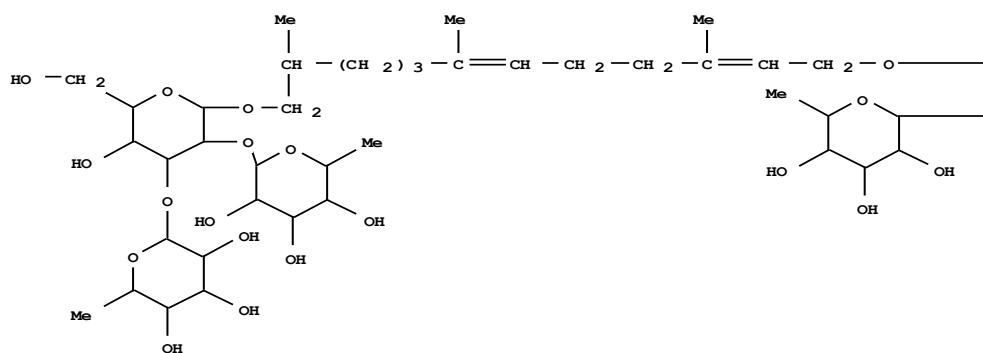
PAGE 1-A

PAGE 1-B

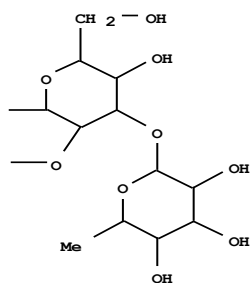


18: Mukurozioside IIa

PAGE 1 -A

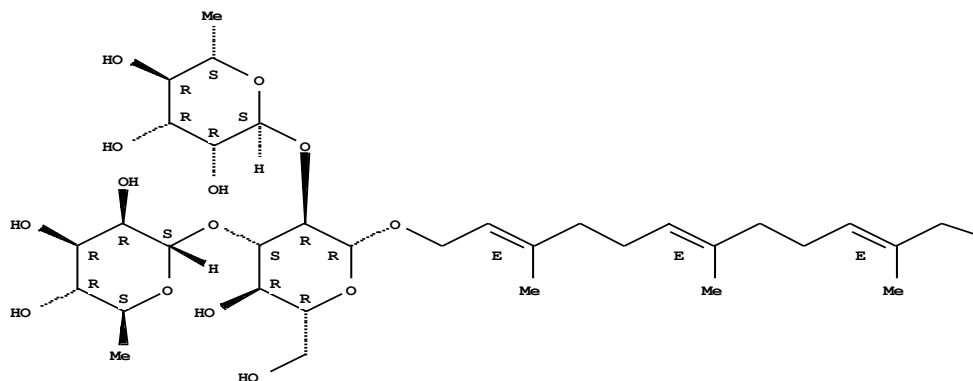


PAGE 1 -B

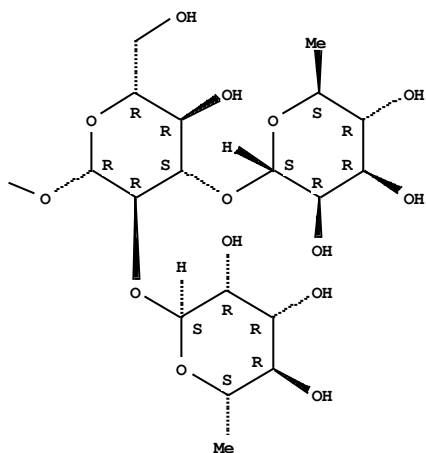


19: Mukurozioside IIb

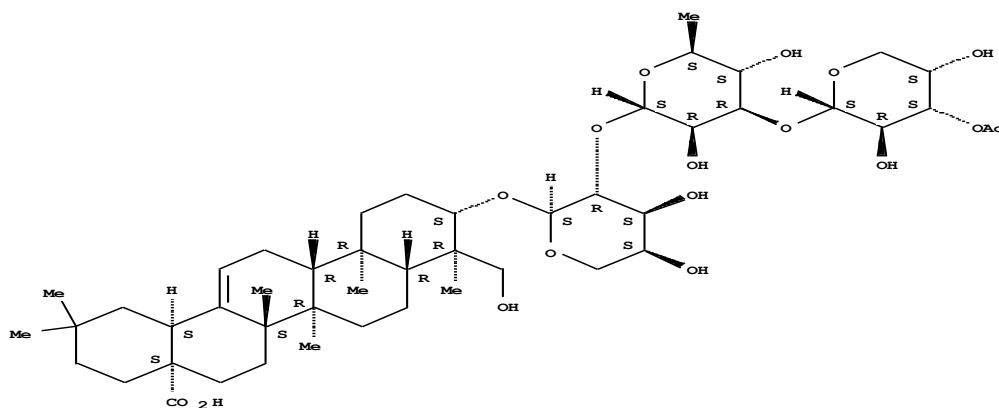
PAGE 1-A



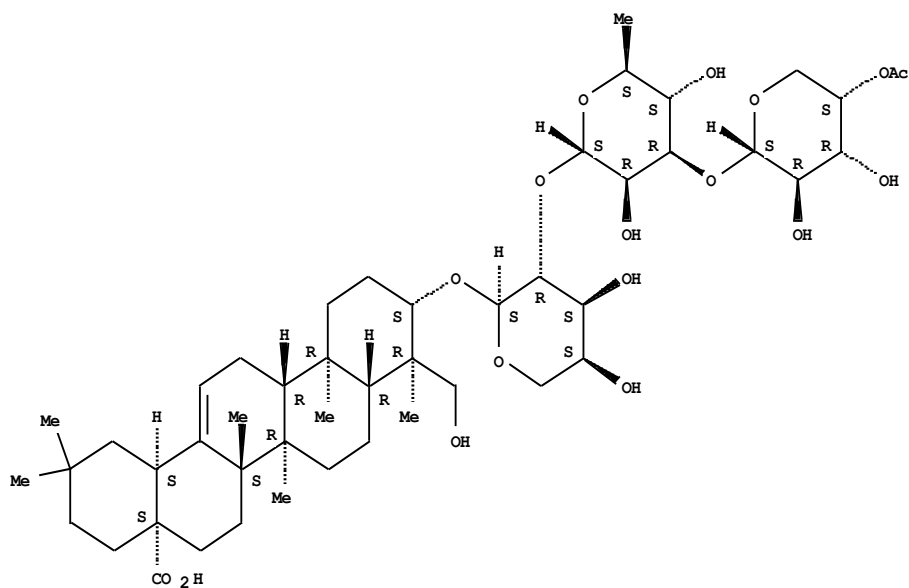
PAGE 1-B



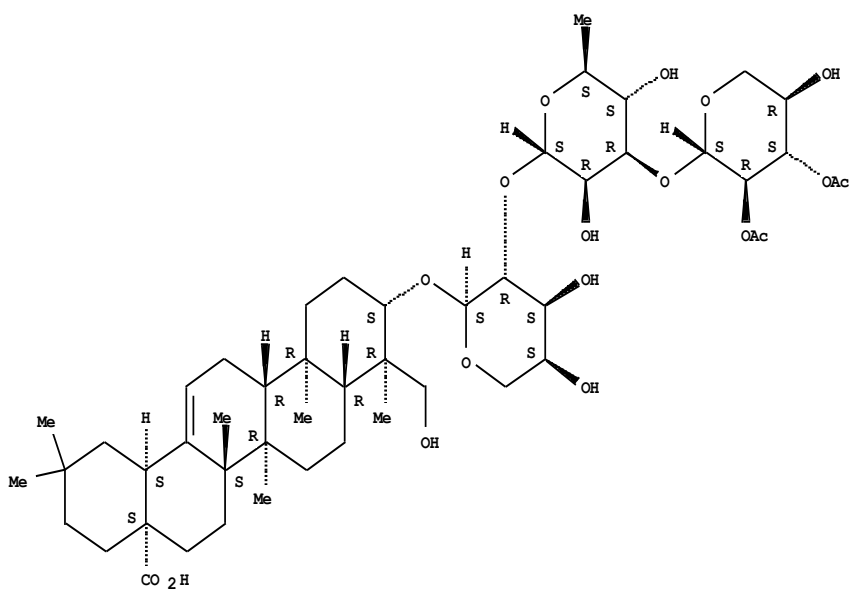
20: Sapinmusaponin K



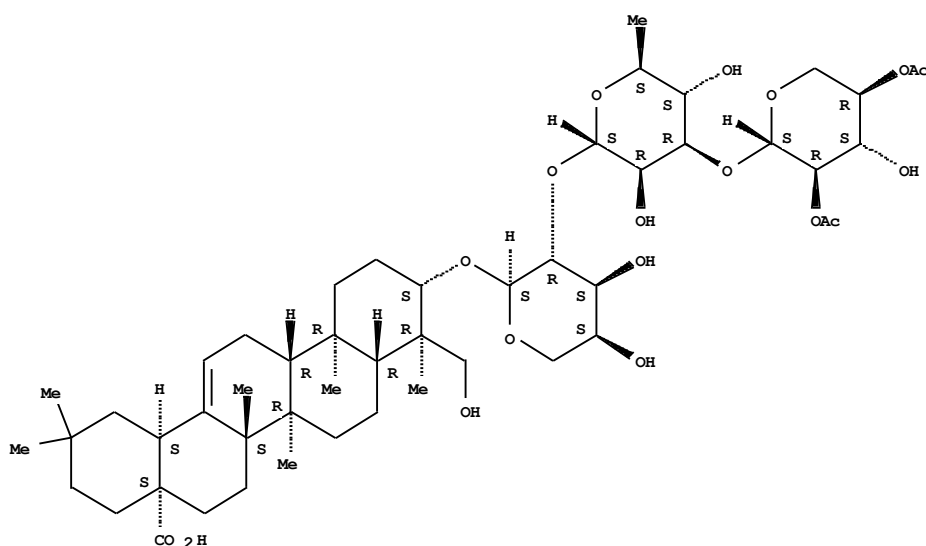
21: Sapinmusaponin L



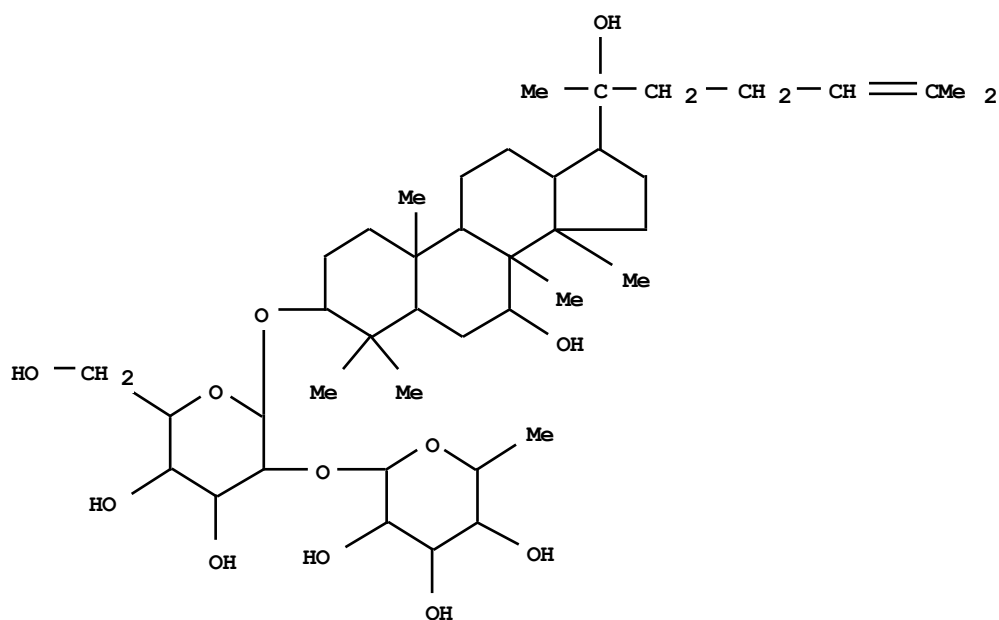
22: Sapinmusaponin M



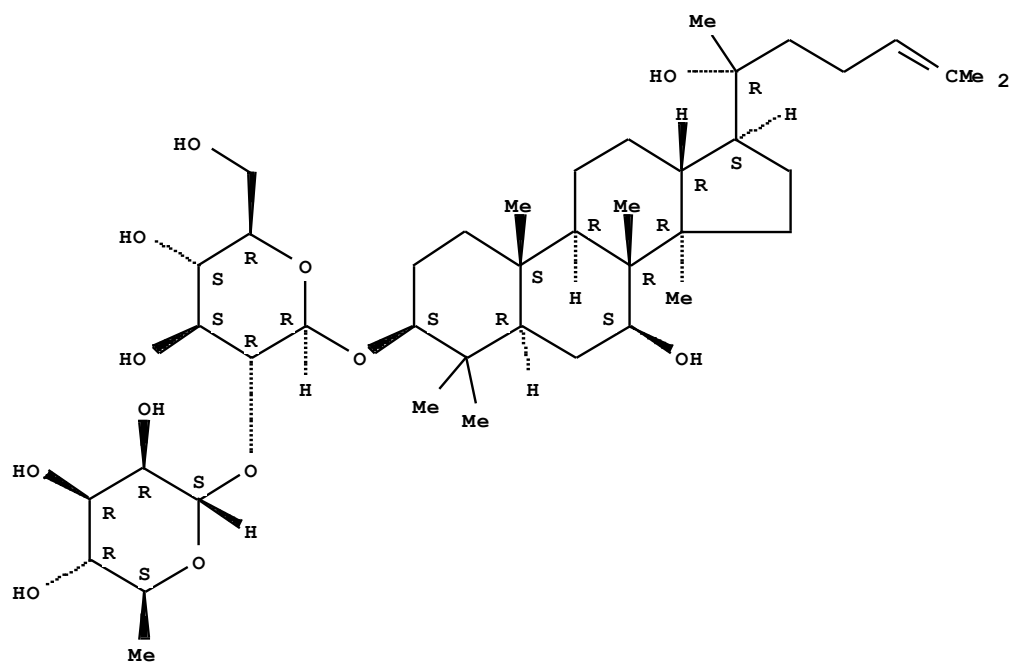
23: Sapinmusaponin N



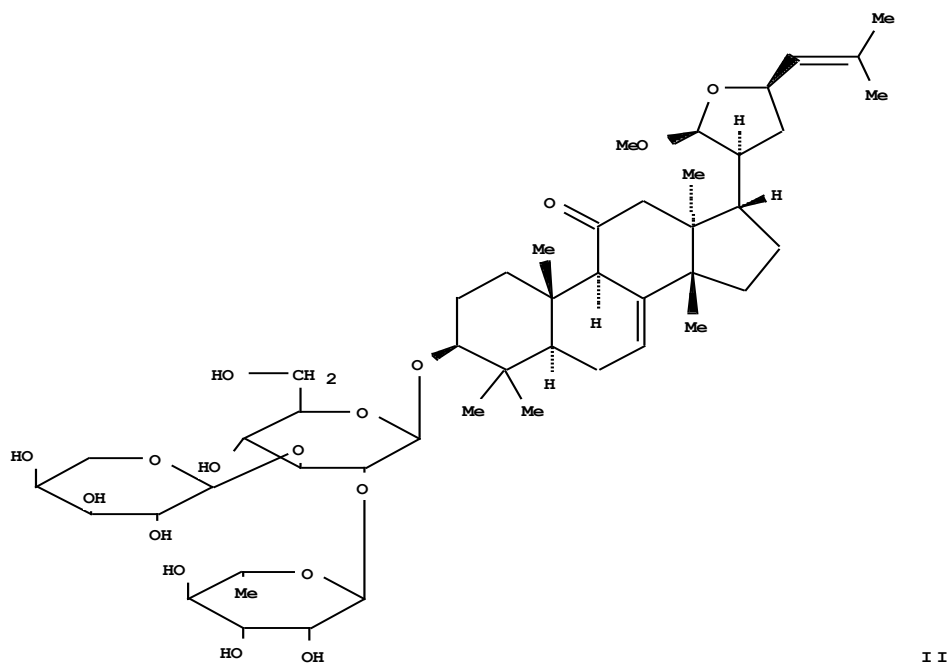
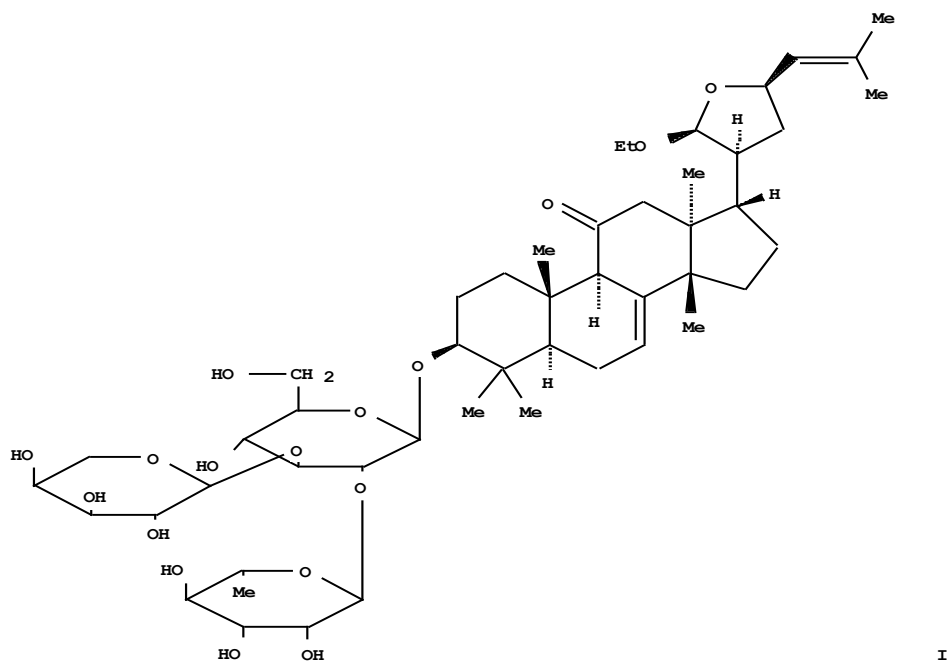
24: Sapinmusaponin O



25: Sapinmusaponin P



26: Sapimukoside C (I) og Sapimukoside D (II)



Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Chatterjee, P. M. A. and Pakrashi, D. S. C.: *The Treatise On Indian Medicinal Plants*. bind 3, Publications & Information Directorate, New Delhi 1994, s. 140-146.
3. Ukjent: *Sapindus mukorossi* Gaertn. The Wealth of India; a dictionary of Indian raw materials & industrial products. Council of Scientific & Industrial Research, 1948-1976. **9**, 225-227.
4. Chopra, R. N., Nayar, S. L., and Chopra, I. C.: *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Council of Scientific & Industrial Research Publication, New Delhi, 1956, s. 221.
5. Rai, M. B.: *Medicinal Plants of Tehrathum District, Eastern Nepal*. Our Nature: An International Biological Journal, 2003. **1**(1), 42-48.
6. Jamir, T. T., Sharma, H. K., and Dolui, A. K.: *Folklore medicinal plants of Nagaland, India*. Fitoterapia, 1999. **70**(4), 395-401.
7. Dev, I., Guha, S. R. D., Jain, K. D., and Swaleh, M.: *Chemical studies on Sapindus mukorossi seed kernel cake*. Indian Journal of Forestry, 1979. **2**(4), 318-322.
8. Barve, K. H. and Laddha, K. S.: *Determination of saponins in medical plants*. The Indian Pharmacist (New Delhi, India), 2006. **5**(48), 59-61.
9. Teng, R., Ni, W., Hua, Y., and Chen, C.: *Two new tirucallane-type triterpenoid saponins from Sapindus mukorossi*. Acta Botanica Sinica, 2003. **45**(3), 369-372.
10. Ahmad, I., Saleem, M., Jabbar, A., and Ahmad, A.: *Lipid components from the seeds of Sapindus mukorossi L.* Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research, 1999. **42**(6), 339-341.
11. Dev, I., Guha, S. R. D., and Swaleh, M.: *Studies on the chemical composition of Sapindus mukorossi Gaertn.* Indian Forester, 1979. **105**(11), 805-809.
12. Dev, I. and Guha, S. R. D.: *Glyceride composition of Sapindus mukorossi (soapnut) oil*. Indian Journal of Forestry, 1979. **2**(3), 261-263.
13. Azhar, I., Usmanhane, K., Perveen, S., Ali, M. S., and Ahmad, V. U.: *Chemical constituents of sapindus mukorossi gaertn. (Sapindaceae)*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 1994. **7**(1), 33-41.
14. Azhar, I., Usmanhane, K., Perveen, S., Ali, M. S., and Ahmad, V. U.: *Two triterpenoidal saponins from sapindus, mukorossi gaertn.* Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 1993. **6**(2), 71-77.
15. Chandra, G., Kumar, A., and Srivastava, B. K.: *Galactomannan from the seeds of Sapindus mukorossi*. International Journal of Chemical Sciences, 2006. **4**(4), 971-974.
16. Gohtani, S., Murakami, A., and Yamano, Y.: *Physicochemical properties of monodesmoside saponins of Sapindaceae (Sapindus mukurossi Gaertn) at air/water and oil/water interfaces*. Food Science and Technology, International (Tsukuba, Japan), 1996. **2**(1), 34-37.
17. Row, L. R. and Ruckmini, C.: *Chemistry of saponins. Part I. Saponin of Sapindus mukorossi*. Indian Journal of Chemistry, 1966. **4**(1), 36-38.
18. Huang, H.-C., Liao, S.-C., Chang, F.-R., Kuo, Y.-H., and Wu, Y.-C.: *Molluscicidal Saponins from Sapindus mukorossi, Inhibitory Agents of Golden Apple Snails, Pomacea canaliculata*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. **51**(17), 4916-4919.

19. Ni, W., Hua, Y., Liu, H.-Y., Teng, R.-W., Kong, Y.-C., Hu, X.-Y., and Chen, C.-X.: *Tirucallane-type triterpenoid saponins from the roots of Sapindus mukorossi*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2006. **54**(10), 1443-1446.
20. Huang, H.-C., Tsai, W.-J., Liaw, C.-C., Wu, S.-H., Wu, Y.-C., and Kuo, Y.-H.: *Anti-platelet aggregation triterpene saponins from the galls of Sapindus mukorossi*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2007. **55**(9), 1412-1415.
21. Kuo, Y.-H., Huang, H.-C., Kuo, L.-M. Y., Hsu, Y.-W., Lee, K.-H., Chang, F.-R., and Wu, Y.-C.: *New Dammarane-Type Saponins from the Galls of Sapindus mukorossi*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. **53**(12), 4722-4727.
22. Kasai, R., Fujino, H., Kuzuki, T., Wong, W. H., Goto, C., Yata, N., Tanaka, O., Yasuhara, F., and Yamaguchi, S.: *Acyclic sesquiterpene oligoglycosides from pericarps of Sapindus mukorossi*. Phytochemistry, 1986. **25**(4), 871-876.
23. Huang, H.-C., Wu, M.-D., Tsai, W.-J., Liao, S.-C., Liaw, C.-C., Hsu, L.-C., Wu, Y.-C., and Kuo, Y.-H.: *Triterpenoid saponins from the fruits and galls of Sapindus mukorossi*. Phytochemistry (Elsevier), 2008. **69**(7), 1609-1616.
24. Ni, W., Hua, Y., Teng, R.-W., Kong, Y.-C., and Chen, C.-X.: *New tirucallane-type triterpenoid saponins from Sapindus mukorossi Gaertn.* Journal of Asian Natural Products Research, 2004. **6**(3), 205-209.
25. Kamra, D. N., Patra, A. K., Chatterjee, P. N., Kumar, R., Agarwal, N., and Chaudhary, L. C.: *Effect of plant extracts on methanogenesis and microbial profile of the rumen of buffalo: a brief overview*. Australian Journal of Experimental Agriculture, 2008. **48**(1-2), 175-178.
26. Blyberg, M.: *Determination of Xenopus index and haemolytic index in fruits of Sapindus mukorossi Gaertn. (Sapindaceae) and seeds of Entada-Scandens Benth. (Mimosaceae)*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1960. **12**(10), 631-634.
27. Tanaka, O., Tamura, Y., Masuda, H., and Mizutani, K.: *Application of saponins in foods and cosmetics: saponins of Mohave yucca and Sapindus mukorossi*. Advances in Experimental Medicine and Biology, 1996. **405**(Saponins Used in Food and Agriculture), 1-11.
28. Takagi, K., Park, E. H., and Kato, H.: *Anti-inflammatory activities of hederagenin and crude saponin isolated from Sapindus mukorossi Gaertn.* Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo), 1980. **28**(4), 1183-1188.
29. Ibrahim, M., Khan, A. A., Tiwari, S. K., Habeeb, M. A., Khaja, M. N., and Habibullah, C. M.: *Antimicrobial activity of Sapindus mukorossi and Rheum emodi extracts against H pylori: in vitro and in vivo studies*. World Journal of Gastroenterology, 2006. **12**(44), 7136-7142.
30. Ojha, P., Maikhuri, J. P., and Gupta, G.: *Effect of spermicides on Lactobacillus acidophilus in vitro; nonoxynol-9 vs. Sapindus saponins*. Contraception, 2003. **68**(2), 135-138.
31. Garg, S., Doncel, G., Chabra, S., Upadhyay, S. N., and Talwar, G. P.: *Synergistic spermicidal activity of neem seed extract, reetha saponins and quinine hydrochloride*. Contraception, 1994. **50**(2), 185-190.
32. Ibrahim, M., Khaja, M.-N., Aara, A., Khan, A.-A., Habeeb, M.-A., Devi, Y.-P., Narasu, M.-L., and Habibullah, C.-M.: *Hepatoprotective activity of Sapindus mukorossi and*

- Rheum emodi* extracts: *In vitro* and *in vivo* studies. World journal of gastroenterology : WJG, 2008. **14**(16), 2566-2571.
33. Bjerke, J. R.: *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell 2007*. Fagbokforlaget AS, John Grieg AS, Bergen, 2007, s. 435-458.

Referanse til foto av treet

Ukjent: South China Agricultural University.

URL:<http://xy.scau.edu.cn/tree/protect/go.asp?id=52> 06.05.09

***Senecio densiflorus* Wall.**

***Senecio densiflorus* Wall.**

Familie: Asteráceae eller Compositae

Botanisk navn: *Senecio densiflorus* Wall.

Burmesisk navn: Ukjent. [1]

Punjabi: Chitawala. [2]

Aktiv del av planten: Bladene. [1]

Tradisjonell bruk i Burma

Bløtgjøringsmiddel og modningsmiddel til byller. [1]

Fakta om planten

Senecio densiflorus Wall. er en busk som har en høyde på mellom 120-180 cm og som lever i klynger. Planten er lokalisert i sentral og øst Himalaya-området som strekker seg fra Nepal til Bhutan. Planten finnes også på Khasi fjellene i Assam ved høyden 1300-2100 meter. [3]

Vitenskapelige undersøkelser

1) Kjemiske studier

1.1 A new valerolactone from *Senecio densiflorus* [2]

Hele planten ble ekstrahert i to løsningsmidler, petroleter og metanol. Fra ekstraktene ble det isolert tre forbindelser.

Framgangsmåte

Plantematerial

Plantematerialet ble samlet inn fra Bombay i India.

Ekstraksjon og isolering

Petroleter ekstraktet

Hele planten ble tørket i skygge og pulverisert. Materialet (2,5 kg) ble satt under reflux med petroleter (60-80 grader). Petroleter ekstraktet ble konsentrert og kjørt gjennom flash kolonne kromatografi eluert med petroleter-EtOAc.

Metanolekstraktet

Hele planten ble først ekstrahert med metanol, residuet som ble dannet ble deretter ekstrahert med etylacetat. Delen som var løselig i etylacetat ble videre rensset av flash kolonne kromatografi eluert med EtOAc-MeOH.

Resultat

Petroleter ekstrakt av hele planten gav to forbindelser, valerolactone og stigmasterol. Stigmasterol ble eluert ved 164-165 grader, og valerolactone ble eluert ved 115-117 grader. Valerolactone ble eluert som et hvit fast stoff. Dette stoffet kommer av krystallisering fra heksan. Molekylformelen til valerolactone ble funnet til å være $C_{15}H_{22}O_2$. Metanolekstrakt av planten gav forbindelsen 7-O- α -D-glukopyranosylcoumarin. 7-O- α -D-glukopyranosylcoumarin ble eluert ved 250 grader som et svakt gulaktig stoff.

2) Biologiske studier

2.1 Combined effect of cyclophosphamide and extracts of Crotalaria and Senecio plants on experimental tumours [4]

Hensikten bak forsøket var å se om kombinasjonen av cyklofosfamid (CTX) og *Senecio densiflorus* gir en forlengelse av levetid for mus som bære S180 (Sarcoma 180) svulst (både i ascites og i fast form). Dette forsøket inneholder også andre planter som ble testet, men det blir ikke tatt med her.

Fremgangsmåte

Plantematerial

Skyggetørket pulver fra planten ble først ekstrahert med petroleter, deretter med metanol i et Soxhlet apparat. Løsningsmiddel ble fjernet under redusert trykk og ekstraktet ble oppbevart i vanlig saltvann som inneholdt 2 % Tween 80.

Cyklofosfamid (CTX)

Cyklofosfamid ble løst i destillert vann.

Dyr

I studien ble det brukt sveitsiske mus.

Analysene

Forsøket med ascites S180

S180 ble dyrket i musene. Planteekstraktet ble gitt til musene med en dose som lå mellom 100-400 mg/kg. Planteekstraktet ble gitt på dag 1, 5 og 9, og startet 24 timer etter tumor implanteringen. CTX ble gitt dyrene samtidig med planteekstraktet. Dyrene ble veid under hele eksperimentet (dag 1 og dag 5), og forskjell i gjennomsnittlig kroppsvekt ble brukt som en indikasjon på at det var tumor tilstedet i musene. Overlevelsestiden til dyrene med tumor ble sammenlignet med kontrollen.

Forsøket med fast form av S180:

Dyrene som veide mellom 22-26 g ble delt i grupper som bestod av seks dyr. Musene ble injisert subkutan med ascites celler rundt armhule området. Behandling med CTX og planteekstrakt startet dagen etter tumor inokuleringen. Planteekstraktet ble gitt *i.p.* på dag 1, 5 og 9. CTX ble gitt samtidig som planteekstraktet. Kroppsvekten til dyrene ble registrert på dag 1 og dag 5. Etter endt behandlingstid ble musene avlivet og svulstene tatt ut og veid.

Resultat:

I denne studien ble petroleter ekstraktet og metanolekstraktet studert i kombinasjon med CTX.

Forsøket med ascites S180:

Resultatene viste at en kombinasjon av CTX og metanolekstrakt av *Senecio densiflorus* forsterket effekten av CTX. Selv om effekten av CTX var forsterket, viste det seg at det ikke var forskjell i overlevelsestidene for kontrollgruppen og behandlingsgruppen. Alle dyrene døde innenfor 15 dager etter svulst injeksjonen.

Forsøket med fast form av S180:

Tilførsel av planteekstraktene gav ingen effekt på veksten av svulsten. Kombinasjon mellom CTX og planteekstraktene gav heller ingen ønsket resultat.

3) Konklusjon og diskusjon

Senecio densiflorus Wall. ble tradisjonelt brukt i Burma som bløtgjøringsmiddel og modningsmiddel til byller.

Studie

Senecio densiflorus Wall ble undersøkt for å se om den i kombinasjon med cyklofosfamid (CTX) kunne gi en forlenget levetid for mus med S180 (Sarcoma 180) svulst. Studien viste at effekten av CTX ble forsterket i kombinasjon med *Senecio densiflorus* Wall., men overlevelsestiden hos dyrene i behandlingsgruppen var ikke bedre enn hos dyrene i kontrollgruppen.

Det er foreløpig ikke funnet vitenskapelige studier som undersøker tradisjonell bruken av *Senecio densiflorus* Wall. i Burma. Studier må gjennomføres før tradisjonell bruken kan vurderes.

4) Kjemiske strukturer

Foreløpig ikke tilgjengelig.

Litteraturliste

1. Nordal, A.: *The Medicinal Plants and Crude Drugs of Burma*. Meddelelser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, 1963. **25**, 155-158.
2. Zarapkar, S. S., Shivalkar, S. A., Shinde, S. L., Indap, M. A., and Bhounsule, N. J.: *A new valerolactone from Senecio densiflorus*. Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 1995. **34B**(6), 569-70.
3. Ukjent: *Senecio densiflorus*. The Wealth of India; a dictionary of Indian raw materials & industrial products. Council of Scientific & Industrial Research, 1948-1976. **9**, 275-276.
4. Inda, M. A. and Gokhale, S. V.: *Combined effect of cyclophosphamide and extracts of Crotalaria and senecio plants on experimental tumors*. Indian Journal of Physiology and Pharmacology, 1986. **30**(2), 182-6.

Oppsummering/konklusjon

Etter et nokså omfattende litteratursøk i databasene, har det både blitt funnet interessante og mindre interessante artikler. Hos enkelte planter ble det ikke funnet noen form for vitenskapelige studier, mens hos andre ble det mange treff. Det som ble funnet er:

***Bischofia javanica* Blume**

Av alle effektene som planten kan ha ut fra tradisjonell bruken, er det kun plantens antiinflammatoriske og smertestillende effekt som er bekreftet. Ellers ble det ikke funnet studier på de andre påståtte egenskapene. *Bischofia javanica* Blume er en interessant plante, og bør forskes mer på siden det ble funnet til å kunne være potensiell DNA Topoisomerase II hemmer. Det er nevnt at dette enzymet kan ha betydning innen kreftbehandlingen.

***Buddleia asiatica* Lour.**

Tradisjonell bruk mot hudsykdommer ble bekreftet gjennom funnet studier. Det ble også funnet at planten har en antioksidant effekt. Dette bør vekke motivasjonen til å undersøke planten nærmere, siden antioksidant effekten er blitt nevnt til å kunne bidra i kreftbehandlingen (reduserer skadene fra frie radikaler i kroppen).

***Colebrookea oppositifolia* Smith**

Tradisjonell bruk av planten ble ikke bekreftet av funnet studier. Men planten bør få en videre undersøkelse, siden de påståtte egenskapene som blant annet middel mot epilepsi kan være nyttig hvis det viser seg at planten har denne effekten.

***Eclipta alba* Hassk.**

Som nevnt i oppgaven så ser det ut som at *Eclipta alba* Hassk. har et bredt tradisjonelt bruksområde over store deler av verden. Mange av disse indikasjonene er blitt bekreftet på grunnlag av studiene. Fra studiene ble det også funnet egenskaper som antioksidant-, smertestillende og lipidsenkende effekt som er interessante. Planten *Eclipta alba* Hassk. er en plante som bør absolutt få mer oppmerksomhet med tanke på alle bruksområdene som planten kan ha.

***Grewia microcos* L.**

Tradisjonell bruk av planten ble ikke bekreftet på grunn av mangel på vitenskapelige studier.

***Jasminum humile* L.**

Tradisjonell bruk av planten ble ikke bekreftet på grunn av mangel på vitenskapelige studier.

***Plumbago indica* L.**

Tradisjonell bruk av planten i Burma er ikke kjent, derfor var det ikke mulig å bekrefte eller avkrefte bruken. Men derimot er noen av indikasjonene fra tradisjonell bruk i andre land bekreftet. Dette gjelder blant annet indikasjonen middel mot hudsykdommer fra India. En av studiene som ble funnet viste at planten hadde effekt mot bestemte typer svulster. Dette gjør at planten bør få en bredere undersøkelse, i og med at svulster kan føre til sykdommer som kan være dødelige. Ellers har planten også andre indikasjoner som er interessante.

***Pterospermum acerifolium* Willd.**

Mange av indikasjonene i tradisjonell bruk av planten er bekreftet gjennom funnet studier. Men det er fremdeles indikasjoner som ikke er vitenskapelig bekreftet men er interessante, som et middel mot svulster. Som nevnt kan svulster føre til dødelige sykdommer, og hvis planten kan dokumenteres å ha denne effekten kan planten være nyttige i behandlingen av svulster.

***Sapindus mukorossi* Gaertn.**

Tradisjonell bruk i Burma og noen indikasjoner i India er bekreftet på grunnlag av funnet studier. Fra studiene er det funnet egenskaper som leverbeskyttende og anti blodplate aggregasjon som kan være interessante. Bruk som middel mot epilepsi bør også motiveres til videre undersøkelse av treet.

***Senecio densiflorus* Wall.**

Bruk av planten i Burma har ikke fått en vitenskapelig bekreftelse på grunn av mangel på vitenskapelig studier.

Av alle plantene er det *Eclipta alba* Hassk. som ser ut til å ha fått mest oppmerksomhet. Dette er ikke uvanlig siden planten ser ut til å ha en ganske stor betydning i folkemedisinen. Ellers er det ganske jevnt fordelt med utførte studier blant de andre plantene.

Alle planter ser ut til å ha sine egne unike egenskaper, derfor vil det være anbefalt å undersøke dem nærmere. Men det vil være best tjent med å undersøke planter som kan være nyttig i behandling av alvorlige og dødelige sykdommer som kreft og epilepsi.